

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA



Caracterización fenotípica de *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de espectro extendido en alimentos expendidos de forma ambulante en sectores aledaños a cinco hospitales de tercer nivel y cinco centros de educación superior en la ciudad de Quito. Octubre 2016 – Enero 2017

**DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO
CIRUJANO**

FRANCISCO XAVIER YÁNEZ SEGOVIA

DIRECTORA: Mtr. Ana María Troya Zuleta

QUITO, 2017

Quisiera dedicar este trabajo de titulación a todas las personas que me acompañaron en este camino, especialmente a Carolina, Valeria y Alía: cuya amistad sincera ha constituido el recurso terapéutico no farmacológico más importante para mi trastorno de ansiedad.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis profesores: Dra. Jeannete Zurita por su invaluable apoyo en este trabajo de titulación, a la Mtr. Ana María Troya: quien creyó en mí desde el principio y al Dr. Nelson Cevallos, cuyo vasto conocimiento resulta inspirador para sus alumnos y trascendental para sus pacientes.

Agradezco a mis mentores: Giovanna y Ney, quienes financiaron esta investigación y cuyas palabras de aliento y esperanza fueron determinantes para la finalización este trabajo.

RESUMEN

Los mecanismos de resistencia constituyen fenómenos ubicuos, naturales, preantrópicos e inevitables (Davies & Davies, 2010; Finley et al., 2013; Guenther, Ewers, & Wieler, 2011; Martínez, Coque, & Baquero, 2014) sin embargo, el uso irracional de sustancias antibióticas por parte de los seres humanos especialmente desde la segunda mitad del siglo XX: de forma excesiva o insuficiente, mal indicada o autoprescrita, ha potenciado el reservorio de genes codificadores de resistencia, lo cual ha permitido que las bacterias causen patologías infecciosas graves, potencialmente intratables que causan una mayor carga social y económica para el estado. A inicios del 2017, la Organización Mundial de la Salud, por solicitud de sus estados miembros elaboró una guía para priorizar los esfuerzos e inversión en investigación y desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos, dentro de la prioridad crítica se encuentran las enterobacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación y *Acinetobacter baumannii* resistente a carbapenémicos (WHO, 2017). Los seres humanos, al igual que otros organismos, pueden contener en su microbioma, bacterias codificadoras de genes de resistencia siendo este un potencial reservorio y foco de diseminación para otros humanos. Es un hecho indiscutible que la cadena alimenticia cuantitativamente es la mayor colonización humana de bacilos gram negativos fermentadores de lactosa con algún tipo de resistencia por lo cual se ha pretendido determinar si los alimentos expendidos en la vía pública de la Ciudad de Quito también constituyen focos de colonización. Después de analizar microbiológicamente 150 muestras de alimentos de expendio ambulante, 34 presentaron contaminación por bacilos gram negativos resistentes, se encontró una correlación estadísticamente significativa entre la venta de alimentos dentro de una distancia radial no superior a 100 metros desde la entrada peatonal al servicio de emergencias del hospital más cercano ($p < 0,001$). Existe una correlación inversamente proporcional entre la distancia desde el suelo del alimento al momento de su expendio y

su contaminación con *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido ($p < 0,05$). Se concluye que la contaminación por estas bacterias en los alimentos vendidos en la vía pública son fuentes de diseminación de bacterias resistentes a cefalosporinas de amplio espectro y que su punto de venta con respecto a establecimientos de salud juega un rol determinante en términos de contaminación.

ABSTRACT

Mechanisms involved in microbiological resistance are ubiquitous, natural, preanthropic, and unavoidable phenomena (Davies & Davies, 2010; Finley et al., 2013; Guenther et al., 2011) however, irrational employment of antibiotic substances by human beings, especially since the second half of the XX century which has led to overusage, misusage and selfprescription, has potentiated quantitatively the reservoirs of antimicrobial-resistant coding genes which has allowed the emergence of potentially untreatable infections, increasing socioeconomic burden for the government. Human beings, as other organisms, can carry in their microbiome resistant coding genes in bacterial microbiome within their digestive tract, decreasing the possibility of survival if infection occurs and also creating the possibility of fecal transmission for others. Food chain is an undisputable source the most number of resistant gram negative bacilli for human gut colonization, reason for it is been intended to determine whether street food in Quito is a source of colonization/infection. After microbiologically analyzing 150 street food samples, 34 were positive for resistant gram negative bacilli growth. Statistically significant correlation could be obtained between radial distance of vending spots inside 100 meters (328 feet) from the pedestrian entrance of the emergency department of the nearest hospital ($p < 0,001$). Moreover, there was an inversely proportional correlation between the location of the product and distance from the soil located at the moment of the purchase and its contamination with extended spectrum betalactamase producing *Escherichia coli* ($p < 0,05$). It can be concluded that street vending foods in Quito constitute reservoirs of wide spectrum cephalosporins and its location plays an important role in terms of contamination rate.

TABLA DE CONTENIDO

CAPÍTULO I.....	3
1. MARCO TEÓRICO	3
1.1. UN ENFOQUE ANTROPOCÉNTRICO DE UN FENÓMENO PREANTRÓPICO	3
1.2. LA REVOLUCIÓN ANTROPOGÉNICA DEL SIGLO XX	7
1.3. LOS MECANISMOS	10
1.4. LOS ALIMENTOS	12
1.5. UN FENÓMENO Mulsistémico	13
1.6. SUSTANCIAS DE USO COTIDIANO	19
1.7. COLONIZACIÓN INTESTINAL EN EL SER HUMANO POR BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES	20
1.8. EL EXPENDIO AMBULANTE: UN PEQUEÑO ARCO EN TODO EL CICLO....	22
1.9. LA CARGA SOCIOECONÓMICA DE LAS INFECCIONES HUMANAS POR BACTERIAS RESISTENTES.....	25
1.10. JUSTIFICACIÓN	27
CAPÍTULO II	29
2. METODOLOGÍA.....	29
2.1. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	29
2.2. OBJETIVOS	29
2.2.1. Objetivo general.....	29
2.2.2. Objetivos específicos	29
2.3. TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO	30
2.4. PRUEBA PILOTO	30
2.5. OBTENCIÓN DE MUESTRAS	31
2.5.1. Marco Muestral	31
2.5.2. Restricciones muestrales	31
2.5.3. Sitios de muestreo.....	32
2.5.4. Toma de muestras.....	37
2.5.5. Transporte de muestras	37
2.6. ANÁLISIS DE LABORATORIO.....	37
2.7. MEDIOS DE CULTIVO Y TÉCNICAS DE LABORATORIO UTILIZADAS	41
2.7.1. Caldo verde brillante bilis 2% con cefotaxima 5 µg/ml	41
2.7.2. Técnica del número más probable con ceros de Poisson	41

2.7.3. CHROMagar™ ESBL	42
2.7.4. Identificación de especie bacteriana por MALDI-TOF MS.....	42
2.7.5. Prueba de sensibilidad a antimicrobianos por Vitek 2.....	43
2.8. CONTROL DE CALIDAD	44
2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	44
CAPÍTULO III	46
3. RESULTADOS	46
<i>Escherichia coli</i> productora de betalactamasa de espectro extendido.....	47
Otros bacilos gram negativos encontrados.....	51
CAPÍTULO IV	58
4. DISCUSIÓN.....	58
CAPÍTULO V	62
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	62
5.1. CONCLUSIONES.....	62
5.2. RECOMENDACIONES	64
BIBLIOGRAFÍA.....	68

LISTA DE ABREVIACIONES

+IBL: asociado a inhibidor de la betalactamasa.

ADN: ácido desoxirribonucleico.

AMG: aminoglucósidos.

AMP: ampicilina.

AP: aminopenicilinas.

BLEE: betalactamasa de espectro extendido.

C: cefalosporinas.

C2: cefalosporinas de segunda generación.

C3: cefalosporinas de tercera generación.

C4: cefalosporinas de cuarta generación.

Carba: Carbapenémicos.

CAZ: ceftazidima.

CPM: cefepima.

CTX: cefotaxima.

CTX-M: cefotaximasa-München.

DOR: doripenem.

EPN: Escuela Politécnica Nacional.

ERT ertapenem.

FOX: cefoxitina.

FQ: fluoroquinolonas.

GC: glicilciclinas.

HBO: Hospital Baca Ortiz.

HCAM: Hospital Carlos Andrade Marín.

HEE: Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.

HFA: Hospital de las Fuerzas Armadas del Ecuador N° 1.

HIA: Hospital Ginecobstétrico Isidro Ayora.

IMI: imipenem.

INEC: Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social.

MA: millones de años.

MALDI ToF MS: espectrometría de masas por tiempo de vuelo con desorción/ionización laser asistida por una matriz (por su sigla en inglés matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer).

MDR: multidrogorresistente.

MERO: meropenem.

PDR: pandrogorresistente.

PIP TAZ: piperacilina tazobactam.

PUCE: Pontificia Universidad Católica del Ecuador

R: resistente.

SARM: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina.

SUL: ampicilina + sulbactam.

TRIM: trimetoprim sulfametoxazol.

UCE: Universidad Central del Ecuador.

UDLA: Universidad de las Américas

UFC: unidades formadoras de colonia.

UP: ureidopenicilinas.

UPS: Universidad Politécnica Salesiana.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Instituciones de las Administraciones Zonales Manuela Sáenz y Eugenio Espejo.	33
Tabla 2. Asignación de puntos eje.	34
Tabla 3. Perfil de resistencia de <i>Escherichia coli</i>	50
Tabla 4. Correlación Distancia del Suelo-Contaminación por <i>Escherichia coli</i> BLEE.	51
Tabla 5. Contaminación de muestras por área.	52
Tabla 6. Contaminación de muestras por tipo de alimento.	53
Tabla 7. Patrón de susceptibilidad antimicrobiana de <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> y <i>Acinetobacter baumannii</i>	54
Tabla 8. Pruebas de χ^2	55
Tabla 9. Correlación distancia radial desde el hospital vs muestras positivas.	56
Tabla 10. Muestra positiva vs distancia en metros tabulación cruzada.	56

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Evolución de las moléculas antibióticas, la emergencia de resistencia en el ambiente y en el ámbito clínico.....	8
Figura 2. Las bacterias resistentes patógenas y no patógenas pueden transmitirse desde animales a los seres humanos a través de la comida por ingestión, contacto directo, diseminación ambiental o a través de desechos fecales.....	14
Figura 3. Mapa de las zonas a estudiarse.	33
Figura 4. Mapa de los puntos eje.....	35
Figura 5. Fotografía durante la obtención de muestras dentro del perímetro establecido.	36
Figura 6. Análisis microbiológico de las muestras.	38
Figura 7. Controles de calidad. A. El tubo de la izquierda (inoculado con <i>E. coli</i> ATCC 25422) muestra la ausencia de turbidez del caldo y ausencia de gas en la campana de Durham, mientras que el tubo de la derecha (inoculado con <i>E. coli</i> BLEE) muestra incremento de la turbidez y producción significativa de gas.	43
Figura 9. Fotografías durante la adquisición de muestras. A. Se observa la distancia entre el suelo y el alimento a expendirse. B y C. Se observa la manipulación del producto.	45
Figura 10. Medio de cultivo sólido cromogénico selectivo para enterobacterias productoras de BLEE (CHROMagar ESBL) con crecimiento de colonias de <i>Escherichia coli</i>	46
Figura 11. Mapa que indica la totalidad de las muestras adquiridas (celeste: negativo - azul: positivo).	53
Figura 12. Puntos calientes (se consideran puntos calientes a aquellas zonas donde existan tres muestras positivas en un trayecto no mayor a 100 metros).	55

Figura 13. Esta figura representa el solapamiento de los puntos ω , que corresponden al sitio alejado 0 metros del ingreso peatonal al área de emergencias del hospital más cercano a los puntos (κ/σ) de expendio del alimento. 57

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1: Directrices para la adquisición de muestras.

Anexo 2: Hoja de chequeo e información de cada muestra.

INTRODUCCIÓN

En una gran parte de culturas, se acepta la venta de alimentos de forma ambulante, los cuales constituyen formas de emprendimiento individual o colectivo, donde se ofrecen una gran variedad de productos (Cardoso, Companion, & Marras, 2014), constituyendo un fenómeno sociocultural inherente al estilo de vida actual (Burt, Volel, & Finkel, 2003). En varios países en vías de desarrollo, como en el Ecuador, los alimentos vendidos de forma ambulante podrían representar un importante problema de salud pública, debido a la regulación no sistematizada de sus procesos para garantizar su inocuidad (Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN, 2013), su potencial producción de enfermedades y transmisión de bacterias que puedan presentar resistencia a antimicrobianos (Bayona, 2009; Campos, Gil, Mourão, Peixe, & Antunes, 2015), lo cual posteriormente representa un desafío terapéutico en caso de presentar una infección por alguno de estos patógenos (Adler, Katz, & Marchaim, 2016; Djuikoue et al., 2016), pudiendo incrementar el retraso en administración de tratamiento adecuado, sufriendo peores desenlaces clínicos que los pacientes que presentan infección por microorganismos sensibles (Jasper, Coyle, Katz, & Marchaim, 2015; Rupp & Fey, 2003). Los betalactámicos son moléculas con poder antibiótico que resultan ser muy seguros, usualmente económicos y eficaces y que han constituido fármacos de primera línea para varios tipos de infecciones (Adler et al., 2016). El aumento en la adquisición de resistencia hacia los betalactámicos por parte de enterobacterias es una tendencia preocupante a nivel mundial (Adler et al., 2016; Alanis, 2005; Bajaj, Singh, & Viridi, 2016; Blane et al., 2016; Bradford, 2001; Brolund & Sandegren, 2016; Jasper et al., 2015; Mulvey & Simor, 2009; Rosenblatt-Farrell, 2009). Estas bacterias pueden poseer betalactamasas de espectro extendido, enzimas que usualmente están mediadas por plásmidos y que son capaces de hidrolizar betalactámicos de amplio espectro como las cefalosporinas de tercera generación (Ghafourian, Sadeghifard, Soheili, & Sekawi, 2015; Kałużna, Wiecek, & Gospodarek,

2014; Nüesch-Inderbinnen, Zurfluh, Peterhans, Hächler, & Stephan, 2015; Rodriguez-Bano, Lopez-Cerero, Navarro, de Alba, & Pascual, 2008).

Una infección producida por *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido se asocia con una mortalidad tres veces mayor que una por una bacteria sensible (Tekiner & Özpınar, 2016). Dentro de las β -lactamasas de espectro extendido, el tipo Cefotaximasa-München (CTX-M) se reconoce como el mecanismo de resistencia bacteriana más amenazador en los entornos clínico y comunitario, invadiendo virtualmente por completo a humanos, animales y medio ambiente (Kim et al., 2015; Tekiner & Özpınar, 2016). Los tipos CTX-M -15 y CTX-M-14 son los más prevalentes en el mundo (Kim et al., 2015; Naseer & Sundsfjord, 2011; Oteo, Pérez-Vázquez, & Campos, 2010).

Recientemente, se ha concentrado el interés sobre esta amenaza microbiológica que desafía a la industria de alimentos listos para consumirse (Reuland et al., 2014). Se ha identificado a estos alimentos como potenciales vehículos de enfermedades infecciosas (Rane, 2011a), además se ha discutido acerca de su seguridad, por su rol como portadores y reservorios de bacterias patógenas o comensales resistentes a antimicrobianos (Nüesch-Inderbinnen et al., 2015; Zurfluh et al., 2015). Los alimentos que se venden listos para servir, pueden ser susceptibles a tener contaminación microbiológica alta, lo cual supone una alta tasa de eventos de contaminación cruzada (Kim et al., 2015; ZengRan, GuangYi, & XiangMei, 2014).

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

En los siguientes párrafos se pretende reunir sintéticamente mecanismos relacionados a la resistencia en la bacteriana y las razones por las cuales, durante las últimas décadas, ciertas bacterias han sido capaces de persistir con sistemas de resistencia bacteriana de alcance pandémico, en cuya diseminación incluyen factores multisistémicos, que involucran absolutamente todas las actividades humanas (Rosenblatt-Farrell, 2009). Adicionalmente se explica por qué la conducta humana en torno al uso irracional de sustancias bacteriotóxicas ha determinado la potenciación de los reservorios ambientales de bacterias codificadoras de genes de resistencia mediante el empleo inadecuado de dichas sustancias, cuyo control radicará únicamente en la capacidad del ser humano de controlar su uso inapropiado y a comprender que el control de las infecciones no se basa en la destrucción de las bacterias próximas al ser humano, sino en su capacidad de aprender a vivir en armonía con las otras formas de vida.

1.1. UN ENFOQUE ANTROPOCÉNTRICO DE UN FENÓMENO PREANTRÓPICO

La comprensión de la resistencia bacteriana requiere superar fronteras establecidas por el restringido estudio de la patología humana y darle una perspectiva genésica, tomando en cuenta que las bacterias le llevan varios millones de años de ventaja evolutiva a los seres humanos y además son los seres vivos más abundantes en la Tierra, existiendo actualmente un número aproximado de 5×10^{30} en el planeta (Finley et al., 2013; Whitman, Coleman, & Wiebe, 1998), del cual un número limitado le causa infección al ser humano. El reservorio original de resistencia es el suelo, vasto repositorio de genes codificadores

de resistencia a antimicrobianos. Los estudios del suelo confirman que la resistencia no es un fenómeno antropogénico, más bien sugieren que la resistencia y la existencia de sustancias antibióticas anteceden por eones al pleistoceno y podrían datar de hace más 800 millones de años (e incluso podrían ser hasta 2×10^9 años) (D'Costa et al., 2011; Davies & Davies, 2010; Forsberg et al., 2012), los genes de resistencia estaban ahí mucho antes de que al ser humano se le ocurriera emplear moléculas antibióticas para tratar dolencias de tipo infeccioso, de hecho, estuvieron ahí antes que existieran organismos pluricelulares (Cooper, 2000; D'Costa et al., 2011).

La biosíntesis de flavonoides y otras modificaciones evolutivas de las algas verdes hizo posible que estos organismos sean capaces de sobrevivir a la radiación ultravioleta solar y comenzaron a colonizar totalmente la superficie de los bloques continentales terrestres hace 472 millones de años (Gondwana oriental principalmente) (Rubinstein, Gerrienne, de la Puente, Astini, & Steemans, 2010). Desde el momento en el que estos organismos fotosintéticos, sin capacidad locomotora, con paredes celulares de celulosa establecen conexiones con el suelo mediante raíces, las bacterias encuentran en sus rizósferas un nicho ecológico adecuado donde establecerán hasta la actualidad conexiones simbióticas, obteniendo de las secreciones radiculares productos metabólicos como agua, azúcares, ácidos orgánicos, aminoácidos, entre otros nutrientes, a cambio de fijar el nitrógeno (gracias a su naturaleza diazotrófica) y librar batallas con bacterias y otros organismos fitopatógenos como, hongos, nematodos, protozoarios, algas y microartrópodos (Monib, Abd-el-Malek, Hosny, & Fayez, 1979; Nihorimbere, Ongena, Smargiassi, & Thonart, 2011). Los filos bacterianos simbióticamente emparentados con las rizósferas son Proteobacteria y Actinobacteria los cuales desarrollaron mecanismos que restringen el crecimiento de otros organismos y promueven el crecimiento de las plantas. Se producen quitinasas y glucanasas capaces de evitar el parasitismo por hongos fitopatógenos, también tienen la capacidad de acceder a fuentes de carbono a partir de azúcares biomolecularmente modificados como el ácido 2-cetoglucónico,

secuestran las fuentes de hierro, también son capaces de interpretar señales de las plantas mediante la detección de incrementos de las concentraciones de ácido jasmónico en la rizósfera (Turner, Ellis, & Devoto, 2002; van Loon, Bakker, & Pieterse, 1998). Las actinobacterias del género *Streptomyces* (Guenther et al., 2011) son una fuente grande de antibióticos producidos de forma natural (Forsberg et al., 2012; Petković et al., 2006). En el suelo y particularmente en las rizósferas, estas bacterias concentran moléculas antibióticas (Petković et al., 2006) y con fin de evitar su autodestrucción por las mencionadas moléculas, estas bacterias han diseñado elementos genéticos que les permiten sintetizar betalactamasas capaces de hidrolizar las sustancias tóxicas que producen y así evitar concentraciones antibióticas intracelulares peligrosas (Davies & Davies, 2010). Otra proteobacteria ambiental, del género *Kluyvera*, de igual forma cataboliza metabolitos antibióticos mediante una betalactamasa, la cual fue transferida a otras bacterias de forma horizontal, de hecho es la betalactamasa más común en el ámbito clínico (Brolund, 2014; Cantón, González-Alba, & Galán, 2012; Lahlaoui, Ben Haj Khalifa, & Ben Moussa, 2014; Naseer & Sundsfjord, 2011; Pitout, 2010), se llama Cefotaximasa-München (CTX-M), por su eficiente capacidad de hidrolizar cefotaxima y porque su primer aislamiento fue a partir de exudado de otitis media de un niño de 4 meses en la ciudad de Múnich (München en alemán) en 1989 (Bauernfeind, Grimm, & Schweighart, 1990). *Streptomyces*, *Kluyvera* (patógenas para los seres humanos en casos de inmunosupresión) (Kapadia, Rolston, & Han, 2007; Sarria, Vidal, & Kimbrough III, 2001) y otras bacterias ambientales (organismos de la familia Bacillaceae, del género *Pseudomonas* y *Burkholderia* y del filo Cyanobacteria) a lo largo del tiempo y gracias a su coexistencia ambiental con otras bacterias, han sido capaces de movilizar sus elementos genéticos de resistencia a organismos taxonómicamente distantes causando que otros organismos se beneficien de su fenotipo resistente (Aminov & Mackie, 2007). La síntesis y destrucción de biomoléculas bacteriotóxicas constituye una ruta metabólica adicional que estos organismos pueden utilizar para garantizar su

sobrevida en el ambiente, no todas las bacterias disponen de estos privilegios metabólicos, debido a que el poseerlos, representa un costo energético de mantenimiento significativo (Kempf & Zeitouni, 2012), lamentablemente, esta parte favorable de su metabolismo le resulta nocivo al hombre en caso de infección invasiva. El concepto antropocéntrico e inexacto de que las bacterias resistentes son las responsables de estar contaminando los ecosistemas y así causando infecciones humanas deberá ser erradicado mediante la comprensión de que las bacterias no son las causantes directas de la contaminación, es la existencia de los seres humanos, la que con la creación de presión selectiva mediante al uso irracional sustancias industrialmente producidas con actividad bacteriotóxica facilita y perpetúa el incremento numérico de bacterias portadoras de dichos genes en el ambiente que comparte con otras formas de vida. Para causar la disminución de la prevalencia proporcional de bacterias con genes codificadores de resistencia y así disminuir la incidencia de infecciones por dichos organismos, se requiere eliminar la presión selectiva. La ausencia de presión selectiva, hace que los organismos que presentan rutas metabólicas accesorias, sean menos aptos y generacionalmente serían suprimidos (Butler et al., 2007) hasta volver a presentar poblaciones numéricamente más pequeñas (normales desde el punto de vista ecológico) y manejables (desde el punto de vista epidemiológico). Siempre existirán reservorios de bacterias resistentes en el suelo, en la rizósfera. Las bacterias ambientales, fuera de la rizósfera: colonizando tractos digestivos de animales (Asir et al., 2015; Guenther et al., 2011; Rocha-Gracia et al., 2015; Tadesse et al., 2012; Zurek & Ghosh, 2014), en aguas (Amos, Zhang, Hawkey, Gaze, & Wellington, 2014; Solo-Gabriele, Wolfert, Desmarais, & Palmer, 2000) y otros microambientes, que no se encuentren sujetas a presión selectiva se adaptarán genéticamente para reducir el costo energético que les supone su privilegio metabólico, mediante mutaciones compensatorias capaces de silenciar la expresión de genes de resistencia, esta evolución compensatoria permitirá a las bacterias resistentes

persistir silenciosamente en la biosfera (Capita & Alonso-Calleja, 2013), hasta que exista alguna fuente de estrés que evoque su replicación.

1.2. LA REVOLUCIÓN ANTROPOGÉNICA DEL SIGLO XX

El microbiólogo del suelo Selman Waksman, a quien se le atribuye el descubrimiento de la estreptomicina en 1943 y ganador del premio nobel por tal motivo, fue el primero en acuñar el término ‘antibiótico’, el cual se refiere a cualquier molécula orgánica capaz de inhibir o suprimir a un microorganismo mediante el establecimiento de interacciones con blancos específicos. Su descubrimiento, junto con el de la penicilina por Alexander Fleming en 1928 y el uso que se le ha dado a estas sustancias en ámbitos clínicos supuso un avance significativo para los tiempos modernos, determinando el establecimiento de una nueva era antrópica: una en la que las infecciones bacterianas ya no restringen la esperanza de vida. El comienzo de la nueva era se vio acompañado desde muy temprano por un visible fenómeno de resistencia en ciertas poblaciones bacterianas que aquejaban al ser humano. La figura 1 intenta adaptar la información de esta y la sección anterior en cuanto a la evolución de las moléculas antibióticas y un enfoque antropocéntrico de su comercialización y aparición de resistencia en ámbitos clínicos (Centers for Disease Control and Prevention, 2017; D’Costa et al., 2011; Davies & Davies, 2010; Kollef, 2009; Liu et al., 2016; Reardon, 2015).

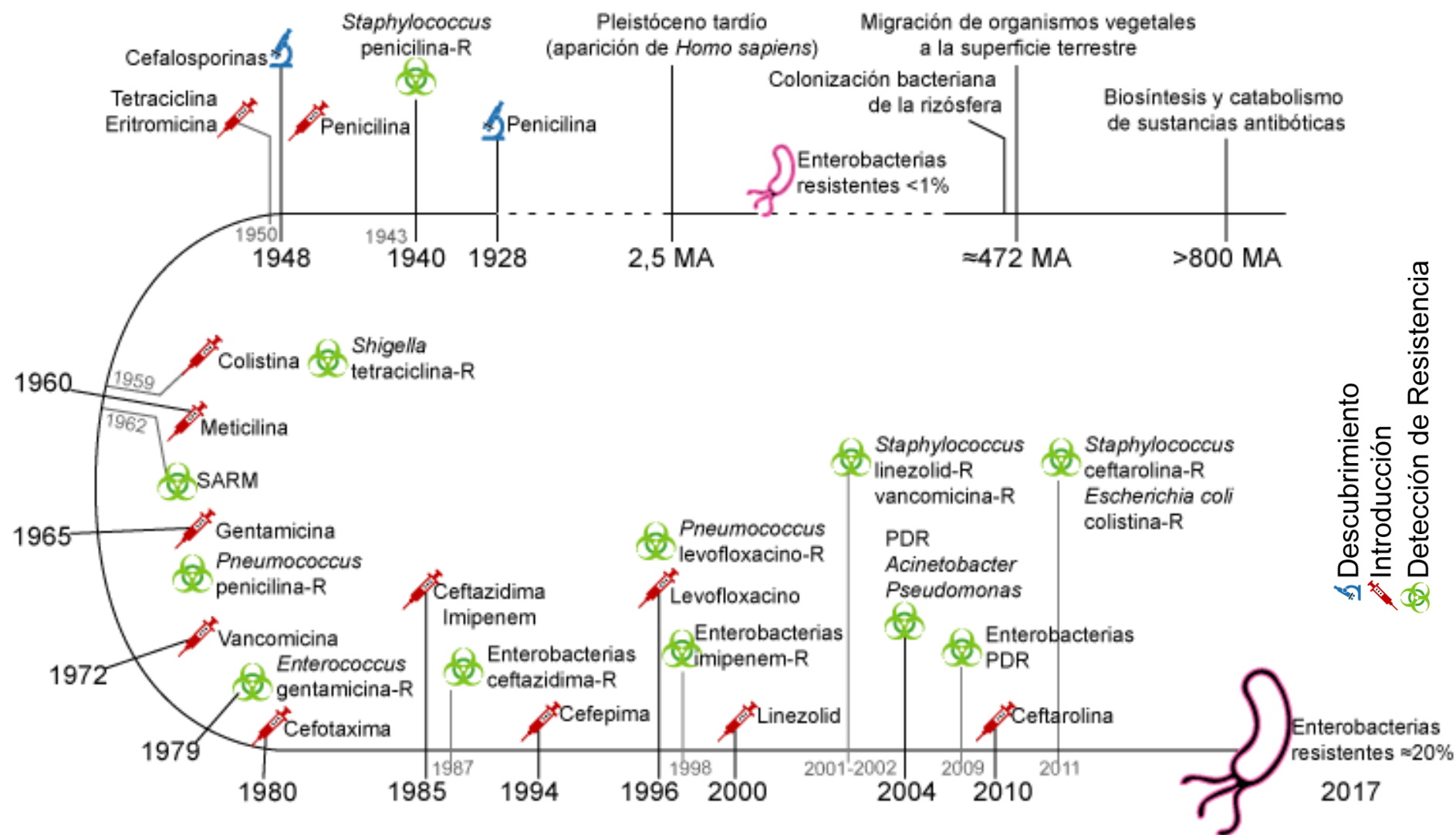


Figura 1. Evolución de las moléculas antibióticas, la emergencia de resistencia en el ambiente y en el ámbito clínico.

La industrialización de sustancias antibióticas, después de la segunda guerra mundial, provocó la masificación de su consumo en una amplia variedad de propósitos (no siempre infección bacteriana), liberando en todos los ecosistemas millones de toneladas métricas de antibióticos (Doyle, 2015). El mejoramiento de los procesos de producción, ha disminuido el precio final del producto, alentando el uso no prescrito y su uso fuera de etiqueta (Aminov & Mackie, 2007). Estos fenómenos causan el aumento de la concentración de moléculas antibióticas en el ambiente, creando presión selectiva, en la que se favorece la aceleración del proceso de selección darwiniano en el que, aquellas bacterias previamente capaces de resistir a dichas moléculas incrementan prevalencia proporcional (Guenther et al., 2011; Rosenblatt-Farrell, 2009). El uso irracional de antibióticos (en dosis subterapéuticas, autorecetados, en periodos no adecuados, etc.) acelera y potencia el proceso de selección bacteriana, que lejos de aliviar las dolencias para las que fueron prescritos, representan un problema de salud pública grave y libera en el ambiente moléculas que amplían el reservorio de genes de resistencia (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Esta realidad, aunada a la original visión humana optimista acerca del alcance de los mecanismos de resistencia bacterianos, provoca que las generaciones actuales y las venideras hereden un reservorio genético de resistencia potenciado en toda la biosfera, cuyo peso se ve y se verá en el incremento de la morbilidad y la mortalidad de forma desmesurada por infecciones por bacterias multi- o panresistentes, lo que comienza a elevar preocupaciones en torno al inicio de una era antrópica similar a la preantibiótica, en virtud de la pérdida de la capacidad de los antibióticos existentes de controlar eficientemente las infecciones bacterianas (Alanis, 2005; Davies & Davies, 2010).

1.3. LOS MECANISMOS

Una amplia serie de mecanismos bioquímicos y fisiológicos son los responsables de la resistencia a antimicrobianos (Davies & Davies, 2010; Rupp & Fey, 2003). Para que existan modificaciones en torno a la sensibilidad a alguna sustancia, las bacterias pueden recurrir a mutaciones de su genoma, las cuales ocurren con frecuencia relativamente baja pero constante: alrededor de 1 por cada 10^7 a 10^{10} células (Mulvey & Simor, 2009). La profundización de los mecanismos implicados desde una perspectiva filogenética, desborda el enfoque de esta revisión bibliográfica, la única conclusión que se mencionará es que si la resistencia bacteriana es bioquímicamente posible, se darán los cambios genéticos necesarios para ejecutarse (Aminov & Mackie, 2007; Martínez et al., 2014; Walsh & Duffy, 2013). Funcionalmente, las sustancias bacteriotóxicas interactúan con las bacterias: inhibiendo la síntesis de pared celular, síntesis de proteínas o replicación de ácidos nucleicos. Para ello, el antibiótico deberá tener acceso a su blanco de acción y unirse a él. Independientemente si el organismo presenta resistencia intrínseca o adquirida, existen numerosos mecanismos mediante los cuales las bacterias hacen frente a las sustancias que les resultan tóxicas. Los mecanismos determinantes de resistencia incluyen: inactivación enzimática, alteración molecular del blanco y estructuras proteicas capaces de evitar el alcance de concentraciones bactericidas.

La inactivación enzimática, constituye un mecanismo eficiente de resistencia, se da cuando una o más enzimas degradan o modifican a las moléculas bacteriotóxicas, haciendo que estas sean inertes para las bacterias, es un mecanismo común en el caso de bacterias productoras de betalactamasas en cuyo caso hidrolizan el anillo betalactámico, transformación que supone la inactividad de los betalactámicos (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Rawat & Nair, 2010).

El tipo de resistencia bacteriana más frecuente no es innata, se da mediante la admisión horizontal de material genético no cromosómico en forma de plásmidos (moléculas de

ácido desoxirribonucleico (ADN) circular extracromosómico capaz de replicarse independientemente del cromosoma bacteriano) (Alanis, 2005). Los plásmidos se transfieren a través de la formación de estructuras proteicas huecas y tubulares llamadas pili que establecen uniones transitorias con otras bacterias permitiendo la copia de dicha región genética a la bacteria receptora, expandiendo el alcance de la resistencia bacteriana de forma horizontal y también vertical: permitiendo a las siguientes generaciones bacterianas tener los mismos genes de resistencia.

Las bacterias también pueden adquirir genes de resistencia a través de la transferencia de transposones e integrones. Los transposones son fragmentos de ADN especializado capaz de contener varios genes de resistencia. No pueden replicarse por sí mismos pero pueden moverse dentro del genoma, facilitando así la migración de genes de resistencia. Los genes de resistencia ubicados a nivel cromosómico pueden diseminarse de forma horizontal gracias a que usualmente se ubican en transposones. Los integrones igualmente pueden codificar genes de resistencia, no pueden moverse por sí mismos, pero son capaces de codificar mecanismos para capturar nuevos genes de resistencia y para escindirlos dentro y desde un integrón, de esta forma incrementar sustancialmente la capacidad de movilidad horizontal de genes de resistencia (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Doyle, 2015; Mulvey & Simor, 2009). La transducción es otra forma de transmisión de genes de resistencia, mediante el uso de un vector, usualmente un bacteriófago, capaz de infectar bacterias. La transformación es el tercer mecanismo de transferencia de material genético y se da cuando existe pasaje directo de DNA libre de una bacteria usualmente dañada o muerta a una bacteria viable. El DNA recibido es incorporado al genoma de la bacteria receptora (Alanis, 2005).

1.4. LOS ALIMENTOS

La transferencia de material genético de forma horizontal constituye un peligro directo e indirecto en la industria alimenticia (Capita & Alonso-Calleja, 2013). El peligro directo consiste en la presencia de bacterias resistentes en los alimentos, colonizando a ciertos seres humanos y también pudiendo causar enfermedad tras ingerir alimentos contaminados o incluso después de haber estado en contacto con ellos (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Los seres humanos que lleguen a colonizarse con bacterias portadoras de resistencia (Rodríguez-Bano et al., 2008), constituirán un reservorio de resistencia y si no alcanzan a descolonizarse, potencialmente en el futuro, existirán múltiples posibilidades de desarrollar morbilidades infecciosas graves o persistentes como por ejemplo, en caso de contaminar su aparato urinario con bacterias fecales (Calbo et al., 2011; Djuikoue et al., 2016; Hui, 2014) o al desarrollar alguna patología perforante del aparato digestivo que le conduzca a bacteremia (Harris et al., 2007; Kollef, Sherman, Ward, & Fraser, 1999; Rawat & Nair, 2010; Sakellariou et al., 2016; Zeiler & Silvaggio, 2015). El peligro indirecto para la salud humana se da a través de la transferencia horizontal de elementos genéticos móviles desde la flora no patógena (comensal, probiótica) a bacterias patógenas. La transferencia se puede dar en cualquier punto de la cadena alimenticia: en el ambiente, en animales destinados a consumo de carne (Carneiro et al., 2010; Tekiner & Özpinar, 2016; van den Bogaard & Stobberingh, 2000), en las superficies destinadas al procesamiento de alimentos (Tschudin-sutter et al., 2016), en la comida (Calbo et al., 2011; Capita & Alonso-Calleja, 2013; Hara-Kudo & Takatori, 2011; Tham, Walder, Melander, & Odenholt, 2012), en el cuerpo humano (Djuikoue et al., 2016; Rodríguez-Bano et al., 2008). Usualmente ambos peligros se dan de forma simultánea. El riesgo relativo atribuible a cada eslabón de la cadena alimenticia no se conoce con exactitud (Capita & Alonso-Calleja, 2013), por lo que determinar focos de inserción de bacterias resistencia, resultaría importante para establecer lineamientos de prevención. Cada factor que participa en el entorno humano, varía enormemente, debido a los complejos y muy

diversos hábitos que diariamente ubican a las personas en diferentes focos de diseminación.

1.5. UN FENÓMENO Mulsistémico

La complejidad de los procesos que contribuyen a la aparición y diseminación de resistencia bacteriana a antibióticos no puede ser suficientemente enfatizada y la falta de conocimientos básicos entorno a este tema es la razón principal por la cual se ha logrado muy modestos logros en cuanto al efectivo control y prevención de su desarrollo (Davies & Davies, 2010). A pesar de los esfuerzos para la difusión de información en torno a esta problemática por parte de la comunidad científica (Berglund, 2015; Okeke & Edelman, 2001; Roca et al., 2015; Ventola, 2015; von Wintersdorff et al., 2016) y algunas autoridades de salud (Centers for Disease Control and Prevention, 2017; World Health Organization, 2001), el avance de la diseminación global de genes de resistencia a través de bacterias comensales en el intestino de seres humanos ha sido implacable. Las diversas formas en las cuales se manifiesta la conducta humana constituye una red gigante de interacciones que de forma cuantitativamente variable aportan a la diseminación de resistencia, la mayor parte de interacciones posibles pretenden ser compendiadas en la figura 2, información tomada y adaptada de algunos autores (Bauernfeind et al., 1990; Bhoomika, Shakya, Patyal, & Gade, 2016; Capita & Alonso-Calleja, 2013; Centers for Disease Control and Prevention, 2017; Davies & Davies, 2010; Ferens & Hovde, 2011; Heuer, Schmitt, & Smalla, 2011; Pullen & Barclay, 2017; Roca et al., 2015; Rosenblatt-Farrell, 2009; Tadesse et al., 2012; Tham et al., 2012; van den Bogaard & Stobberingh, 2000; WHO, 2017; Yazdankhah et al., 2006; Zurfluh et al., 2015).

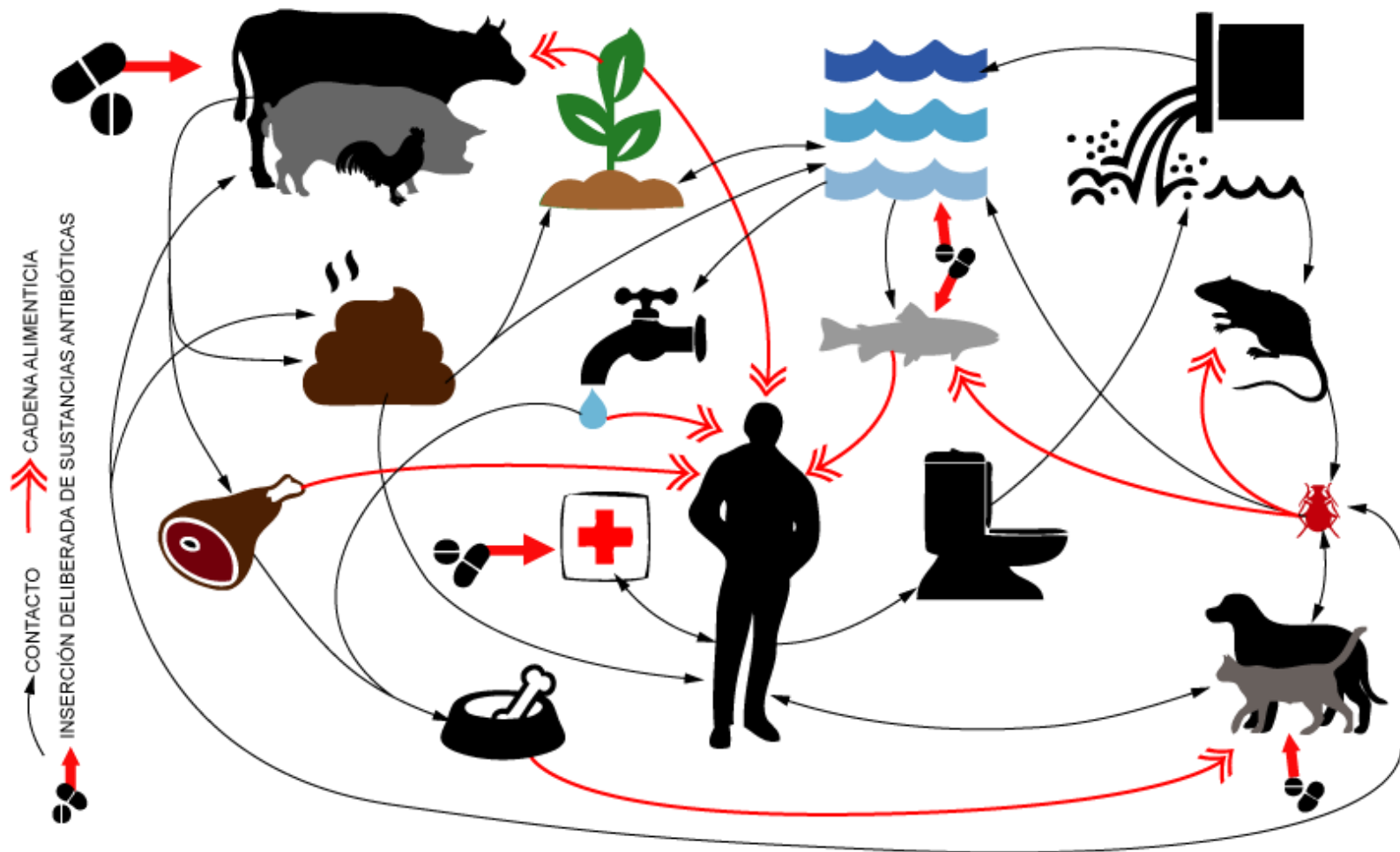


Figura 2. Las bacterias resistentes patógenas y no patógenas pueden transmitirse desde animales a los seres humanos a través de la comida por ingestión, contacto directo, diseminación ambiental o a través de desechos fecales.

Los humanos y los animales constituyen una superposición de reservorios de resistencia antibiótica, la mitad del peso producido de antibióticos se destina a la industria ganadera y la mitad a la humana, lo cual constituye un factor determinante en cuanto a la selección de resistencia (Finley et al., 2013). Incluso, el uso de antibióticos usados para el ganado puede llegar hasta el 70%, en los Estados Unidos, donde este porcentaje (casi 11 millones de kilogramos de antibióticos al año) se coloca rutinariamente en la comida y el agua del ganado sano (Finley et al., 2013; Rosenblatt-Farrell, 2009).

Según la Organización Mundial de la Salud, en Norteamérica y Europa se emplea aproximadamente un 50% del total de antibióticos consumidos cada año en la el tratamiento, metafilaxis, profilaxis y como promotor de crecimiento en animales de consumo humano (Capita & Alonso-Calleja, 2013; van den Bogaard & Stobberingh, 2000), los fármacos utilizados con mayor frecuencia son tetraciclinas, betalactámicos y sulfamidas (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Finley et al., 2013; Kools, Moltmann, & Knacker, 2008). El uso en masa de fármacos antibióticos como promotores de crecimiento del ganado, consiste en administrar dosis bajas o subterapéuticas de antibióticos en animales sanos (ganado vacuno, porcino y aves de corral especialmente) por periodos extensos para promover la capacidad de dichos animales en convertir el alimento en masa corporal (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Esta conducta está particularmente extendida y favorece la aparición y selección de resistencia bacteriana, en los animales, en los productos derivados de estos y en todos aquellos lugares a donde los animales tengan contacto, agua, aire, tierra (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Rosenblatt-Farrell, 2009).

Las concentraciones subletales de antibiótico añadido al alimento animal propicia el ambiente necesario para el desarrollo de resistencia en la flora bacteriana del ganado, que posteriormente, a través de su estiércol se diseminará por el suelo y el agua, contaminando aguas destinadas para riego para cultivos o acuacultura y también fuentes

de agua para en consumo humano (Doyle, 2015; Heuer et al., 2011; Kudva, Blanch, & Hovde, 1998). Los excrementos del ganado se han asociado a la presencia de numerosos patógenos como *Samonella* sp., *Escherichia coli* enterohemorrágica, *Campylobacter* sp., *Yersinia* sp., *Brucella* sp., entre otros. Estos microorganismos pueden contaminar la comida cuando se utilizan como abono, o cuando el estiércol contamina el agua de riego o el agua destinada para el consumo humano o incluso con el contacto directo con la comida, durante el lavado (Heuer et al., 2011), por ejemplo, los vegetales de hoja comestible crudos son de gran preocupación (Bhutani et al., 2015; Doyle, 2015; Kim et al., 2015; Randall et al., 2017; Reuland et al., 2014; van Hoek et al., 2015; Wright et al., 2013). La solución para evitar la contaminación de los alimentos con bacterias resistentes provenientes del estiércol debe ser mediante la eliminación de los reservorios (Capita & Alonso-Calleja, 2013), tomando en cuenta que el periodo de supervivencia de *Escherichia coli* puede ser incluso de hasta 630 días en el estiércol (Kudva et al., 1998). El manejo del estiércol varía considerablemente dependiendo de la región, pero generalmente, se utilizan en Latinoamérica como fuente de nutrientes y compuestos nitrogenados para las plantas, esto supone un problema debido a la diseminación de microorganismos en la superficie del suelo y en el agua. El depósito y posterior proliferación de bacterias en las aguas superficiales determinara la diseminación de las bacterias en aves (Bonnedahl et al., 2014; Ferens & Hovde, 2011; Guenther et al., 2011; Sjölund et al., 2008; Winker et al., 2007), peces (Ferens & Hovde, 2011; Sørsum, 2006) e insectos (Okeke & Edelman, 2001; Rosenblatt-Farrell, 2009; Zurek & Ghosh, 2014). Una gran variedad de artrópodos son capaces de transportar bacterias multirresistentes (Zurek & Ghosh, 2014). Por ejemplo moscas, cucarachas, las cuales también pueden estar en contacto con desechos y posteriormente transportar estas bacterias a alimentos y otras superficies que afecten a humanos (Doyle, 2015; Finley et al., 2013; Graham, Price, Evans, Graczyk, & Silbergeld, 2009; Zurek & Ghosh, 2014). Se han encontrado nichos ecológicos portadores de resistencia bacteriana en lugares remotos, un estudio

(Sjölund et al., 2008) realizado en la fauna del ártico, demostró que las aves migratorias, son capaces de diseminar bacterias portadoras de genes de resistencia. Las aves durante el verano boreal vuelan miles de kilómetros hacia el norte, atravesando hasta 6 continentes (América del Norte/Caribe, América del sur, Asia, África, Oceanía, Antártida) (Winker et al., 2007), por lo cual esta podría ser la respuesta por la cual se han encontrado poblaciones humanas con un nulo consumo de antibióticos en pueblos remotos de Senegal (Ruppé et al., 2009), Islas septentrionales de Alaska (Bonnedaahl et al., 2014), indígenas de Bolivia (Pallecchi et al., 2007), del pacífico central (Ardiles-Villegas, González-Acuña, Waldenström, Olsen, & Hernández, 2011) portadoras de *Escherichia coli* con el genes CTX-M (usualmente CTX-M-15).

La acuicultura, al igual que muchos otros sectores de la producción de alimentos, no está exenta de presentar bacterias resistentes, según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, cada tonelada de agua en uso para productos de acuicultura, pueden ir de 2 gramos (Noruega) a 700 gramos (Vietnam) de antibióticos varios (Capita & Alonso-Calleja, 2013). No se han desarrollado todavía fármacos antibióticos específicos para afecciones bacterianas de seres acuáticos, por tanto las sustancias utilizadas son las que se usan normalmente para el uso humano o para animales terrestres: como oxitetraciclina, trimetoprim sulfadiazina, flumequina y florfenicol. El significado que esta conducta tiene para los productos alimenticios provenientes de acuicultura son: la selección y diseminación de bacterias multiresistentes, transmisión de genes de resistencia a los nichos ecológicos en contacto con el agua y la presencia de residuos antimicrobianos en los productos de acuicultura. Estas bacterias que portan genes de resistencia, pueden causar enfermedades en humanos, si se consumen los productos de acuicultura mal cocidos, si se ingiere agua o si existe cualquier forma de contacto con estas aguas (como el contacto recreacional). Afortunadamente los patógenos en los peces son incapaces de proliferar satisfactoriamente en mamíferos por no presentar tolerancia a las temperaturas de estos. Sin embargo la capacidad que tienen las bacterias

del agua de acuicultura de transferir genes de resistencia de forma horizontal en plásmidos a bacterias patógenas para el ser humano (incluyendo *Escherichia coli* y *Citrobacter freundii*) ha sido documentada (Sørum, 2006). Según un reporte del 2008, en Europa, casi el 60% de los casos de residuos de productos veterinarios en comida provienen de crustáceos (55% involucrando a cloranfenicol y nitrofurantoína) y pescado (4% verde malaquita) (European Commission, 2008).

En cuanto a los vegetales, en los Estados Unidos se ha utilizado por varias décadas estreptomicina y oxitetraciclina como tratamiento preventivo del fuego bacteriano, una fitopatológica infecciosa causada por *Erwinia amylovora* y por *Pseudomonas syringae*, afecta esencialmente a las plantas de la familia rosácea (que incluye plantas como peras, manzanas y duraznos) causando daños muy graves en el cultivo, pudiendo afectar a plantaciones enteras. En Latinoamérica se ha extendido el uso de gentamicina con el mismo fin, en ambos casos el medio ambiente se expone a sustancias antibióticas de forma masiva, pudiendo contribuir a la diseminación de genes de resistencia.

Consecuencia del uso a gran escala de antibióticos con fines no necesariamente terapéuticos, estos son liberados al medio ambiente usualmente sin sufrir cambios metabólicos (por ejemplo el 75% de la tetraciclina administrada al ganado porcino, se excreta de forma inalterada al medioambiente), arrojando al ecosistema sustancias activas, las cuales promueven el crecimiento de bacterias patógenas portadoras de genes de resistencia. Estas moléculas antibióticas liberadas en el medio ambiente son capaces de crear la oportunidad necesaria para que exista selección de resistencia en las poblaciones bacterianas expuestas (Finley et al., 2013; Rosenblatt-Farrell, 2009). De forma inevitable estas bacterias encontrarán la forma de llegar a la cadena alimenticia y alcanzar la dieta de alguno de los consumidores humanos.

En la ciudad, los desechos provenientes de la industria farmacéutica, las aguas residuales, especialmente las de origen hospitalario (donde se consume una vasta

cantidad de sustancias antibióticas) favorecen el desarrollo de resistencia en las poblaciones bacterianas contenidas en las plantas de tratamiento de agua, estas bacterias se liberan en algún momento al medio ambiente (Doyle, 2015). A nivel residencial, entre el 50% y el 98% de las personas (Bound et al., 2017; Seehusen & Edwards, 2006) desconoce que es una práctica extremadamente peligrosa para el medioambiente y por extensión para la salud humana el desecho de medicamentos caducados o sobrantes a través de los retretes. Se ha estimado que aproximadamente dos tercios de todos antibióticos que consumen los humanos se excretan inalterados (Kümmerer, al-Ahmad, & Mersch-Sundermann, 2000). En estudios de farmacocinética se ha demostrado que en seres humanos, antibióticos como amoxicilina pueden ser excretados de forma inalterada hasta en un 80% por vía renal (Rosenblatt-Farrell, 2009). Las aguas de drenaje podrían enviar al suelo bacterias con genes codificadores de resistencia, lo cual puede suceder desde entornos urbanos (Amos et al., 2014; Bound et al., 2017; Seehusen & Edwards, 2006) o sitios remotos, como por ejemplo en estaciones científicas en la Antártida (Hernández et al., 2012). Existe evidencia de que existen vías de diseminación adicionales, Niels Høiby y colaboradores, demostraron la capacidad de excreción de ceftriaxona y ceftazidima a través de glándulas apócrinas (en axilas) y ecrinas (en antebrazos), indicando que existen concentraciones elevadas de aquellos fármacos en forma no metabolizada, relacionados con un incremento en la resistencia en sus floras bacterianas cutáneas (bacterias gram positivas: *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*, *Corynebacterium* sp.). (Høiby, Pers, Johansen, Hansen, & The Copenhagen Study Group on Antibiotics in Sweat, 2000).

1.6. SUSTANCIAS DE USO COTIDIANO

Existe evidencia que detergentes, solventes, desinfectantes, entre otros, son capaces de inducir la expresión de resistencia antibiótica múltiple mediante operones. Existen

operones capaces de regular la expresión de un gran número de genes, incluyendo los codificantes para al menos una bomba de eflujo de amplia especificidad (como la bomba arcAB) la cual se expresa con fuerza bajo condiciones estresores del medio ambiente. Esto sugiere el directo vínculo existente entre los estresantes ambientales, como los encontrados en comidas, ambiente y la expresión de bombas de eflujo y el desarrollo de resistencia bacteriana (Rosenblatt-Farrell, 2009). El suplemento de bacteriostáticos en concentraciones subletales en ciertos alimentos, contribuyen a la selección de organismos resistentes (Rosenblatt-Farrell, 2009). Se continúa investigando el impacto de los desinfectantes y productos antibacteriales como los jabones que contienen biocidas en la resistencia bacteriana. Ya se ha confirmado dicho impacto: el mal uso de clorhexidina, triclosán y otros biocidas se correlaciona con la presencia de clones bacterianos resistentes (Pullen & Barclay, 2017; Yazdankhah et al., 2006). El uso descuidado de compuestos clorados, como hipoclorito de sodio, puede condicionar la selección de *Pseudomonas aeruginosa* multidrogoresistente en ambientes intrahospitalarios y domésticos (Mazzola, Martins, & Penna, 2006; Norwood & Gilmour, 2000). La cloración subóptima del agua, favorece la selección de mencionados organismos (Shrivastava et al., 2004).

1.7. COLONIZACIÓN INTESTINAL EN EL SER HUMANO POR BACILOS GRAM NEGATIVOS RESISTENTES

Existen múltiples posibilidades en las cuales, un grupo de bacilos gram negativos fermentadores de lactosa (coliformes) resistentes lleguen al intestino del ser humano para causar infección y/o colonizarlo. Existen factores que disminuyen el tamaño del inóculo necesario para llevar a cabo tales efectos. La virulencia de las bacterias ingeridas resulta ser decisiva al momento de hablar de dosis infecciosa (Bajaj et al., 2016), en caso de presentar varios factores de virulencia, se requerirán muy pocos organismos para causar

infección y colonización crónica. La cepa Nissle 1917 de *Escherichia coli*, en seres humanos inmunocompetentes, presenta una dosis infecciosa mínima superior a 10^8 organismos (Maltby, Leatham-Jensen, Gibson, Cohen, & Conway, 2013). Sin embargo si se tratara de una cepa shigatoxigénica de *Escherichia coli*, con el serotipo O157:H7, se requerirían menos de 10 organismos para causar la infección/colonización (Hara-Kudo & Takatori, 2011). La competencia de la inmunidad innata en los seres humanos también constituye un factor limitante en términos de tamaño del inóculo. Esta inmunidad puede verse comprometida por diversas patologías y también por intervenciones médicas (iatrogenia) y automedicación. El uso de antibióticos especialmente por tiempos prolongados (aparte de causar presión selectiva sobre la microbiota intestinal y seleccionando clones resistentes) disminuye considerablemente la dosis de colonización necesaria debido a la existencia de otras bacterias residentes en el intestino ajenas a las poblaciones bacterianas comensales inocuas que existen en los individuos que no están expuestos crónicamente a fármacos antibióticos. Es por esto que los individuos que toman agentes antibióticos están en mayor riesgo de desarrollar infecciones con sus propios patógenos intestinales resistentes al fármaco que estén utilizando (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Existe evidencia de que el compromiso de otro mecanismo inmunitario innato: la modificación del bajo potencial de hidrógeno de la luz estomacal, aumenta el riesgo de infección intestinal bacteriana (Bavishi & DuPont, 2011; Hassing, Verbon, de Visser, Hofman, & Stricker, 2016).

En cuanto a los factores de riesgo para adquirir de forma intestinal organismos multirresistentes, independientemente de la carga bacteriana consumida por vía oral y del compromiso inmunológico del individuo afectado, se encuentran: hospitalización reciente (Harris et al., 2007), personas que requieren servicios de salud con frecuencia (Asir et al., 2015; Ben-Ami et al., 2009) o estar en contacto con sitios de atención de salud no hospitalario (asilos de ancianos) (Blane et al., 2016). Enfermedades crónicas (diabetes, alcoholismo, etc.), uso de drogas intravenosas, ciertos deportes (particularmente de

contacto como lucha, o involucrando objetos de cuero, como el voleibol), viajes a India (Tängdén, Cars, Melhus, & Löwdin, 2010). Contacto estrecho con mascotas (Rocha-Gracia et al., 2015). Portar cuerpos extraños (Antony, Parikh, Soto, Cameron, & Mody, 2016; Ena, Arjona, Martínez-Peinado, del mar López-Perezagua, & Amador, 2006; Hui, 2014; Lee, Lee, & Lee, 2010; Martínez-Pastor, Vilchez, Pitart, Sierra, & Soriano, 2010; Modi, Modi, Siddiqui, & Andreoni, 2011; Tham, Odenholt, Walder, Andersson, & Melander, 2013). El contacto sexual genital-oral, oral-anal también constituye también un factor de colonización de bacilos gram negativos multiresistentes (Mook et al., 2016). Otros factores sexuales podrían asociarse a la transmisión de enterobacterias productoras de BLEE, como la adhesión a costumbres entorno a la coprolagnia, urolagnia, coprofilia, *fisting* y clismafilia (este último en caso de uso compartido de juguetes sexuales por vía anal) (Mook et al., 2016; Reinheimer et al., 2017). Los riesgos intrahospitalarios y comunitarios suelen solaparse, por lo que una herramienta útil basada en predicción de origen de infección basadas en factores de riesgo no existe (Adler et al., 2016; Kollef et al., 1999; Mulvey & Simor, 2009; Platteel et al., 2015).

1.8. EL EXPENDIO AMBULANTE: UN PEQUEÑO ARCO EN TODO EL CICLO

La transmisión de bacterias portadoras de resistencia antibiótica a través de alimentos es cuantitativamente la más importante, especialmente donde los estándares de higiene en alimentos no se aplica consistentemente durante el proceso de elaboración (Capita & Alonso-Calleja, 2013; van den Bogaard & Stobberingh, 2000; ZengRan et al., 2014). Existen numerosos reportes relacionando el consumo de alimentos en seres humanos y enfermedad causada por bacterias patógenas portadoras de genes de resistencia, sin embargo solo un número muy restringido de reportes han confirmado dicha relación.

Los alimentos vendidos en la calle juegan un papel importante en las zonas urbanas del mundo contemporáneo (Cardoso et al., 2014; Food and Agriculture Organization of the

United Nations, 2011), particularmente en Suramérica en donde representa una forma de emprendimiento relativamente rentable y asegura el acceso a alimentos de forma rápida y económica para personas de la clase trabajadora con ingresos medios y bajos (Cardoso et al., 2014). Constituyen elementos ubicuos en las calles de las capitales de América. Los vendedores son culturalmente variables, sin embargo suelen compartir rasgos sociales como el pertenecer a grupos económicos vulnerables, minorías étnicas, migrantes interregionales, personas de edad avanzada, personas quienes son particularmente afectados por políticas y prácticas urbanas que condicionan un limitado acceso a empleo estable, usualmente sufren marginalización, discriminación (Rane, 2011a). Por lo cual deben encontrar formas de supervivencia basadas en microemprendimientos, como son la venta de alimentos en la vía pública (Cardoso et al., 2014). Este tipo de emprendimiento es especialmente atractivo porque requiere poca o ninguna instrucción, inversión inicial baja, gastos generales mínimos, no requiere el pago de renta, su rápida capacidad de instalación y movilización les permite explorar mejores sitios de captación de clientes y realizar transacciones con pérdida capital mínima, no suelen requerir empleados legalmente remunerados y están exentos del pago de la mayoría de impuestos para la población económicamente activa (Cardoso et al., 2014). La venta ambulante de alimentos tiene también un impacto positivo para las economías locales y para el ecosistema, debido a que se adaptan a las costumbres culinarias locales lo cual favorece la utilización y consumo de alimentos locales, fomentando la biodiversidad y jugando un rol importante alcanzando soberanía, seguridad alimentaria y una cadena alimenticia urbana sustentable (Proietti, Frazzoli, & Mantovani, 2014).

Se ha probado sin embargo que las malas prácticas de manipulación de alimentos, la higiene deficiente, la inexistente infraestructura sanitaria, ausencia de sitios adecuados para la disposición de basura y la desprovisión de agua potable son los factores que más afectan a este tipo de emprendimientos (Rane, 2011b; ZengRan et al., 2014).

Como se ha repasado en los párrafos anteriores, existen numerosas causas por las cuales un alimento pueda contaminarse con bacterias resistentes, las cuales pueden interrelacionarse, por ejemplo, las bacterias de este tipo presentes en la carne, pueden haberse originado en el ámbito veterinario o en granjas donde se administra fármacos antibióticos a través del alimento o para el tratamiento de infecciones (Bhoomika et al., 2016). Los vegetales pueden contaminarse a través de la contaminación del agua de riego o durante el lavado de vegetales y frutas con agua contaminada (Bartram & Pedley, 1996; Doyle, 2015). El personal que manipula el alimento puede favorecer la contaminación cruzada si no existen las medidas necesarias para evitar el contacto de carne con vegetales (ZengRan et al., 2014). O podría contaminar los alimentos de forma directa si este personal es portador de dichas bacterias (Doyle, 2015).

Existen testimonios de personas que aseguran nunca haber desarrollado un episodio gastrointestinal agudo después de haber ingerido un alimento preparado y/o expendido en la calle (Jácome, 2017). Sin embargo esto no causa sorpresa, debido a que se requieren los factores mencionados de forma previa para la instauración de un episodio infeccioso gastrointestinal agudo por bacterias vivas en los alimentos, concretamente: los factores de virulencia de las bacterias, la carga bacteriana del alimento, la inmunidad del hospedador y la entropía a la cual se sujetan todos los acontecimientos. Las infecciones e intoxicaciones suelen ser producto de la convergencia de estos factores. El problema realmente se vincula a la presencia de bacterias contaminando alimentos, las cuales pueden portar genes de resistencia, que posiblemente no causen un problema de presentación aguda. Un individuo que ingiera este tipo de bacterias, reuniendo los factores mencionados, se convertirá en portador de estas y su intestino, constituirá un reservorio de resistencia bacteriana con un potencial de diseminación masivo.

En la Unión Europea se han realizado consensos (Capita & Alonso-Calleja, 2013) para asegurar la higiene de los productos alimenticios, incluyendo el correcto control de la

temperatura, evitando al máximo que los alimentos se mantengan en la zona de peligro que se encuentra entre 5°C y 63°C, es decir cocinando y preparando los alimentos fuera de esta zona y manteniendo los alimentos crudos bajo temperaturas a las cuales los microorganismos no sean capaces de reproducirse. Evitar la contaminación cruzada entre los alimentos crudos y los alimentos listos para comer por contacto directo o indirecto. Diseño de sitios de preparación de alimentos con una estructura secuencial acorde a los diferentes momentos de preparación evitando el contacto del producto final con los residuos y con los alimentos crudos y manteniéndolos siempre a más de 20 centímetros del suelo. Mantener limpieza personal estricta de aquellas personas que preparan los alimentos, asegurando su acceso a agua potable, evitando además malos hábitos como fumar en presencia de los comensales y consumidores, usando siempre delantales y cobertores de cabeza durante la preparación y expendio de los alimentos. Estar siempre atento a cambios en hábitos intestinales, acudiendo a servicios de salud en caso de manifestación de evento diarreico agudo. Control de plagas (Capita & Alonso-Calleja, 2013).

1.9. LA CARGA SOCIOECONÓMICA DE LAS INFECCIONES HUMANAS POR BACTERIAS RESISTENTES

El tratamiento para las infecciones causadas por bacterias resistentes usualmente es fallido y el tratamiento efectivo suele ser demorado, se asocia a un pronóstico más sombrío y a un costo superior comparado con infecciones por bacterias sensibles (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Doyle, 2015). Las infecciones por patógenos resistentes provoca una carga económica al sistema de salud y a la sociedad, exacerba o prolonga el periodo de enfermedad y por ende el periodo de estadía intrahospitalaria (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Pitout, 2010). Dentro de las consecuencias económicas asociadas a la resistencia bacteriana, existe una mayor utilización de herramientas diagnósticas de

laboratorio y de imagen (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Al menos dos veces más probabilidades de ser hospitalizado y más tiempo de estadía comparado con bacterias no resistentes. Utilización de recursos terapéuticos farmacológicos adicionales y/o alternativos ante el fracaso de los fármacos de primera línea, los cuales tienen un costo más elevado, se acompañan de un aumento en la aparición de efectos secundarios asociados a dichos fármacos, mayor ausentismo laboral, aumento en gastos hospitalarios destinados a la prevención de transmisión (aislamiento), además el fracaso del tratamiento multiplica el riesgo de complicaciones, afectando extensamente a pacientes cuya inmunidad se encuentra comprometida, como los pacientes que padecen cáncer, pacientes con desnutrición infantil y pacientes portadores del virus de la inmunodeficiencia humana con algún grado de inmunocompromiso, en quienes el prevenir y tratar este tipo de infecciones de forma oportuna y agresiva es esencial para su sobrevivencia. De igual forma, la resistencia a antibióticos en portadores, pone en peligro procedimientos médicos como transplantes de órganos, prótesis, donde el uso de antibióticos de forma empírica es crucial para la seguridad del paciente y para evitarle complicaciones (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Incluso si los pacientes logran sobrevivir a infecciones graves causadas por organismos portadores de resistencia, requerirán terapias antibióticas y de soporte que demandarán un mayor costo y un mayor periodo de estadía en el hospital (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Se ha estimado que las infecciones por bacterias multidrogoresistentes resultan en más de 2,5 millones de días extras de estadía en el hospital y causan 25100 muertes cada año en la Unión Europea, Islandia y Noruega (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Las infecciones causadas por bacterias resistentes se asocian a calidad de vida disminuida, con infecciones bacterianas metastásicas, aumento de tasa de recurrencia, tender a la cronicidad, infecciones oportunistas futuras con organismos resistentes (Buehlmann, Bruderer, Frei, & Widmer, 2011; Capita & Alonso-Calleja, 2013; DeBusscher, Zhang, Buxton, Foxman, & Barbosa-Cesnik, 2009).

Es usualmente difícil predecir cuando un paciente es portador de bacterias resistentes a antibióticos, la ausencia de pruebas diagnósticas, confiables, rápidas y accesibles complica la posibilidad de acertar el régimen antibiótico empírico cuando se está ante estos casos (Capita & Alonso-Calleja, 2013). Es urgente la necesidad de encontrar una herramienta que reúna características de sostenibilidad y eficiencia suficientes para evitar que se retrase la administración de la terapia antibiótica efectiva y sin que se exponga a los pacientes a moléculas antibióticas de amplio espectro sin necesidad. Un estudio en una unidad de cuidados intensivos demostró que existe una mortalidad significativamente alta en pacientes que han recibido una terapia antibiótica empírica no acertada (42%) comparado con pacientes que recibieron la terapia antibiótica adecuada (17%) (Kollef et al., 1999). De igual forma el retraso en la administración de terapia antibiótica adecuada, podría provocar la exposición del paciente con su entorno de forma más prolongada aumentando su periodo de infectividad hacia la población en general, aumentando en riesgo de transmisión de estas bacterias resistentes (Capita & Alonso-Calleja, 2013; Sakellariou et al., 2016).

1.10. JUSTIFICACIÓN

La falta de conocimientos básicos en torno a los mecanismos de selección y diseminación de bacterias portadoras de genes de resistencia es una de las razones principales por las cuales se desestima y subestima este tópico, evitando que existan logros significativos la adecuada prevención y control de la propagación de bacterias portadoras de regiones genéticas accesorias capaces de evocar fenotipos resistentes.

Aunque *Escherichia coli* presente en los alimentos no siempre resulta ser patógena en humanos, los pacientes hospitalizados, pueden experimentar problemas no solo con enfermedades directamente transmitidas por estos alimentos sino por portar microorganismos que presentan patrones de multidrogoresistencia (Kim et al., 2015). Los

portadores de *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido no provienen del entorno intrahospitalario, sino adquieren su condición de portadores en la comunidad (Adler et al., 2016; Ben-Ami et al., 2009; Blanco et al., 2016; DeBusscher et al., 2009; Hawkey & Jones, 2009; Jasper et al., 2015; Oteo et al., 2010; Tian, Chen, Chu, & Wang, 2008), motivo por el cual es de importancia epidemiológica determinar su origen, el cual según algunos autores (Egea, López-Cerero, Navarro, Rodríguez-Baño, & Pascual, 2011; Kim et al., 2015; Nüesch-Inderbinnen et al., 2015; Tekiner & Özpınar, 2016; Tschudin-sutter et al., 2016), podrían ser los alimentos frescos.

CAPÍTULO II

2. METODOLOGÍA

2.1. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los alimentos vendidos de forma ambulante en sectores aledaños a los cinco hospitales de tercer nivel y los cinco centros de educación superior sujetos de estudio en la ciudad de Quito presentan contaminación con *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido?

2.2. OBJETIVOS

2.2.1. Objetivo general

Determinar si existen alimentos de venta ambulante en la ciudad de Quito que constituyan reservorios de *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido. Y determinar si representan fuentes significativas de colonización para la población consumidora.

2.2.2. Objetivos específicos

- Determinar si las características intrínseca y los factores externos a los alimentos se asocian a la contaminación con *Escherichia coli* productora de betalactamasas de espectro extendido.
- Cuantificar la carga bacteriana mediante el Método de ceros de Poisson en las muestras positivas.
- Caracterizar el perfil de resistencia que tengan las bacterias que se encuentren en el estudio.

- Determinar la existencia de factores externos e intrínsecos del alimento y la presencia de *Escherichia coli* productora de BLEE.

2.3. TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Para determinar la presencia de *E. coli* BLEE en alimentos vendidos de forma ambulante se realizó un estudio de tipo transversal.

2.4. PRUEBA PILOTO

Una semana previa al inicio de la adquisición de las muestras oficiales, se realizó una prueba piloto a 400 metros de radio del punto 0°11'50,1" de latitud sur y 78°30'7,4" de longitud oeste. Se compraron 10 muestras de alimentos de expendio ambulante, según las estipulaciones del anexo 1, se realizó el análisis microbiológico según las directrices de la figura 5 y como resultado se logró determinar el adecuado rendimiento de los medios de cultivo, las instalaciones del laboratorio especialmente en cuanto a la conservación de la temperatura de incubación y a la sincronización y sistematización del anexo 1 y figura 5. Además se determinó la existencia de 1 muestra positiva para *Escherichia coli*, confirmada por espectrometría de masas MALDI-ToF. La existencia de 1 muestra positiva, indica una prevalencia preliminar de 10%. La muestra encontrada positiva producía betalactamasa de espectro extendido, adicionalmente mostraba una concentración inhibitoria mínima superior a 16 para gentamicina (VITEK 2). El alimento contaminado se trataba de ensalada de lechuga, tomate, perejil, zanahoria y aderezo no identificado, expendido a 0°11'50,2" de latitud sur y 78°30'7,4" de longitud oeste, la cual mediante la técnica de Ceros de Poisson presentaba un número más probable de unidades formadoras de colonia de 1,12 por gramo de alimento, dependiendo de los

factores de virulencia y el estado inmune de los comensales, este alimento podría ser causa de colonización.

2.5. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

2.5.1. Marco Muestral

Los vendedores ambulantes forman parte del “Gran Grupo 9”, denominado “ocupaciones elementales” dentro la clasificación Internacional Uniforme de Ocupaciones (Organización Internacional del Trabajo, 2008). Las personas que se dedican a este tipo de trabajos constituyen el 10,6% y 14,6% (INEC, 2010) de la población económicamente activa en las administraciones zonales Manuela Sáenz y Eugenio Espejo respectivamente, donde se desarrolla esta investigación. En la Administración Zonal Eugenio Espejo la población económicamente activa está constituida por 223.480 personas, lo que significa que 23.689 personas se dedican a “ocupaciones elementales”. En Manuela Sáenz, la población económicamente activa está representada por 109.311 personas, lo que corresponde a 15.959 personas que se dedican a “ocupaciones elementales”. Esto significa que en ambas administraciones zonales existen 39.648 personas que se dedican a “ocupaciones elementales”, que están principalmente representados por vendedores ambulantes, quienes son objeto de este estudio.

2.5.2. Restricciones muestrales

Nivel de Confianza: 95%

Error: 5%

Fórmula:

$$n = \frac{N\sigma^2Z^2}{[(N-1)E^2] + (\sigma^2Z^2)}$$

$$n = 150$$

Dónde:

$\sigma = 0,11$ Representa la heterogeneidad del universo, basado en estudios similares (Kim et al., 2015; Nüesch-Inderbinen et al., 2015; Tekiner & Özpınar, 2016; Tschudin-sutter et al., 2016).

Esta heterogeneidad se compatibiliza con la prevalencia preliminar de 10% obtenida en la prueba piloto.

$Z = 1,96$ Este puntaje Z corresponde a un nivel de confianza de 95%.

$E = 0,05$ Se aceptará este margen de error.

$N = 39.648$ Universo.

2.5.3. Sitios de muestreo

Del 28 de noviembre del 2016 al 24 de enero del 2017, se compraron 150 alimentos vendidos de forma ambulante en las administraciones zonales Manuela Sáenz y Eugenio Espejo, sitios donde se ha configurado un distrito multipropósito, concentrando instituciones con fines académicos, judiciales, financieros, lúdicos, culturales, sanitarios lo que obligadamente requiere la presencia de seres humanos, quienes diariamente se desplazan hasta este sitio desde sus hogares para desempeñar sus actividades cotidianas y que usualmente requieren consumir alimentos en su tiempo libre. Por tanto, se ha restringido la colección de alimentos ambulantes a aquellas áreas con alto flujo y recambio de peatones. Se han eligieron sitios aledaños a cinco hospitales de tercer nivel que presentan el mayor número de camas y a cinco centros de educación superior con el mayor número de matriculados, los cuales se encuentran en el área de estudio y en cuyos casos constituyen lugares estratégicos para la ubicación de ventas ambulantes. Se ha delimitado un área no superior a dos manzanas alrededor de dichos establecimientos

(Hospital de Especialidades Eugenio Espejo, Hospital Ginecobstétrico Isidro Ayora, Hospital de las Fuerzas Armadas N°1, Hospital Carlos Andrade Marín y Hospital Especializado Baca Ortiz, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, la sede de Ciencias de la Salud de la Universidad Central del Ecuador, la sede principal de la Universidad Central del Ecuador, Universidad de las Américas, Universidad Politécnica Salesiana, Escuela Politécnica Nacional (Tabla 1).

Tabla 1. Instituciones de las Administraciones Zonales Manuela Sáenz y Eugenio Espejo.

Hospitales de tercer nivel en las Administraciones zonales Manuela Sáenz y Eugenio Espejo (camas).	HGOIA	249*
	HBO	213*
	HEE	425*
	HCAM	588†
	HFAN°1	236‡
Instituciones educativas de tercer nivel en las Administraciones zonales Manuela Sáenz y Eugenio Espejo (matriculados).	EPN	6637**
	UDLA	11073**
	PUCE	21736**
	UPS	26000**
	UCE	34623**

*: (Ministerio de Salud Pública, 2015); †: (Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social - Hospital Carlos Andrade Marín., 2014); ‡: (INEC, 2012); **: (Consejo de Educación Superior, 2013)
 **: (Ministerio Coordinador de Conocimiento y Talento Humano, 2012); **: (SNIESE, 2015)

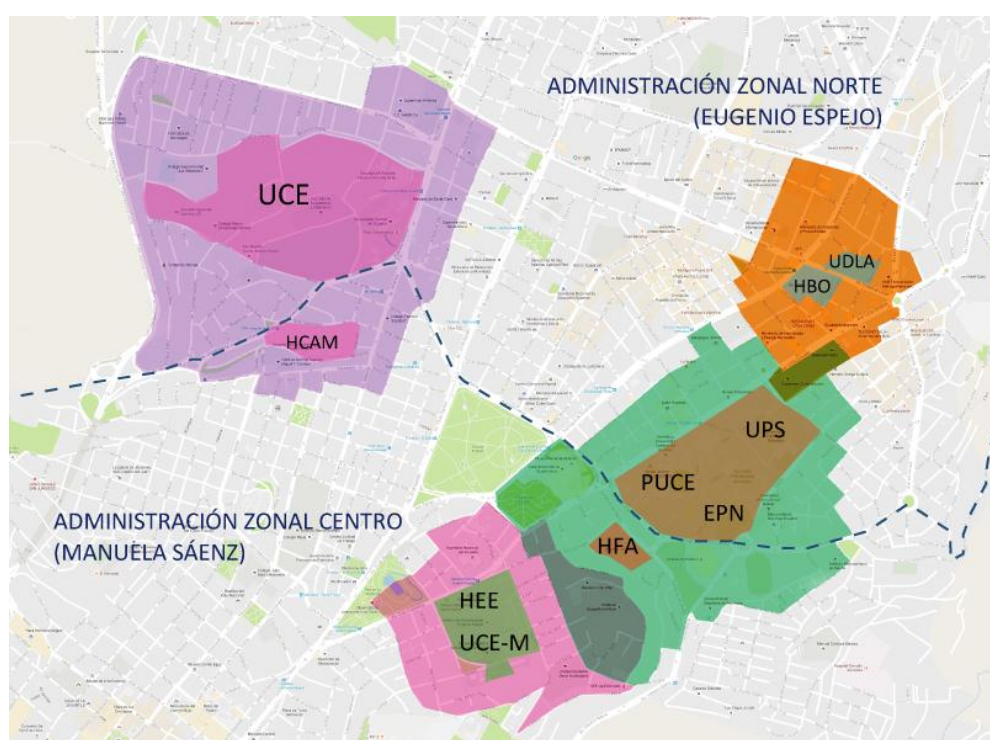


Figura 3. Mapa de las zonas a estudiarse.

En la figura 3, se indica un mapa mostrando al norte la Administración Zonal Eugenio Espejo y al sur la Administración Zonal Manuela Sáenz (se omite la Administración Zonal Especial Turística La Mariscal, por no formar parte de los sitios de muestreo), se indican con colores las instituciones de educación superior y los hospitales de tercer nivel incluidos en el estudio, señalando además las dos manzanas a la redonda propuestas para la recolección de muestras, se han establecido 4 áreas en función de la proximidad existente entre las instituciones. Cada área presenta una superficie diferente, por tanto, para otorgar homogeneidad a cada área se han designado puntos de eje para la recolección en cada una (Lucan et al., 2013, 2014). Se han asignado 10 puntos de eje por cada kilómetro cuadrado de superficie y se ha colocado cada punto en la convergencia de ejes viales principales.

Tabla 2. Asignación de puntos eje.

	Hospitales	Universidades	Área	Puntos Eje
Área 1	H. Carlos Andrade Marín	U. Central del Ecuador	1.13 km ²	11
Área 2	H. Especialidades Eugenio Espejo H. Ginecobstétrico Isidro Ayora	U. Central del Ecuador (Ciencias Médicas)	0.46 km ²	5
Área 3	H. de las Fuerzas Armadas N°1	Pontificia Universidad Católica del Ecuador U. Politécnica Salesiana Escuela Politécnica Nacional	1.10 km ²	11
Área 4	H. Pediátrico Baca Ortiz	U. de las Américas	0.43 km ²	4

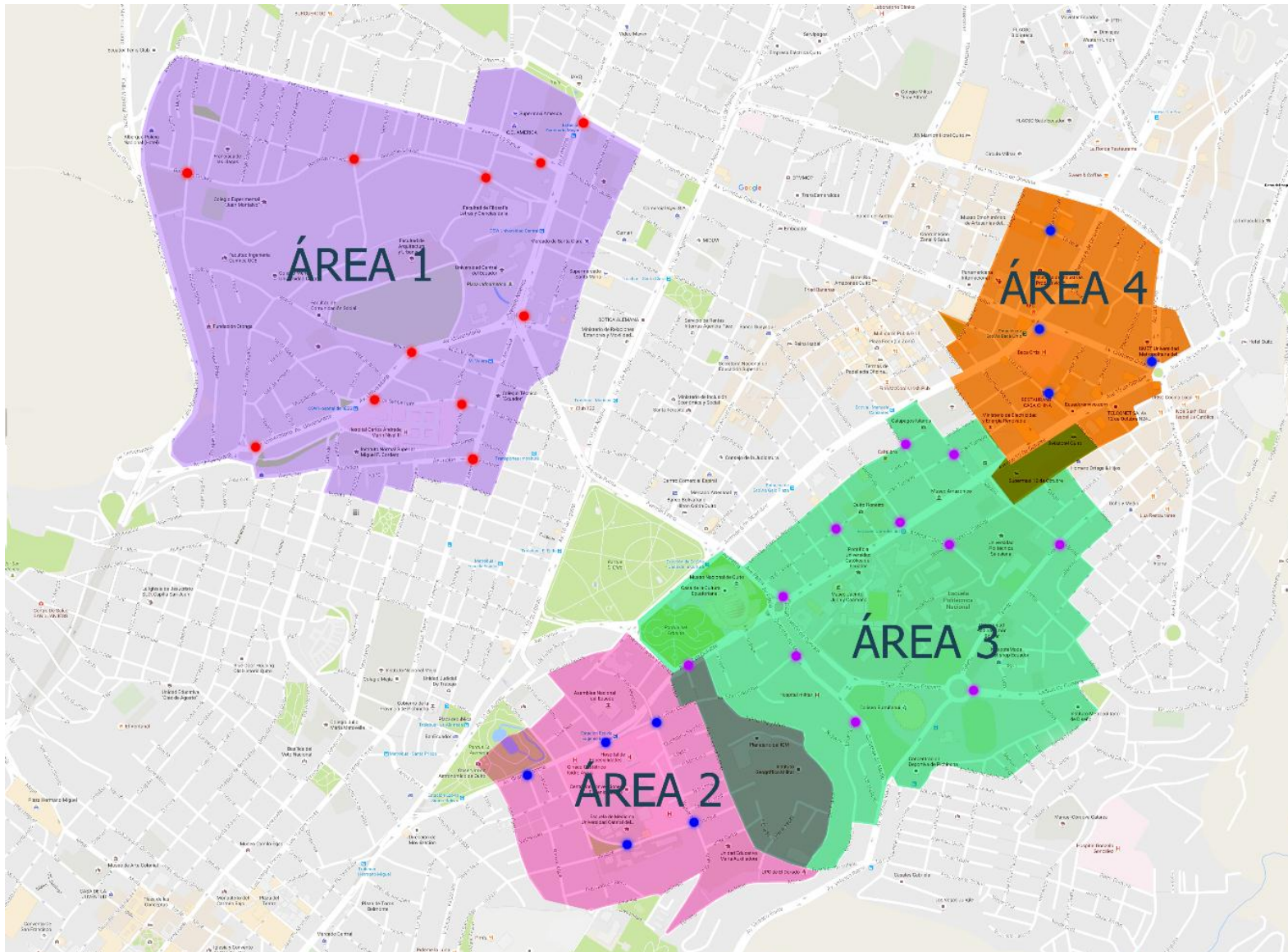


Figura 4. Mapa de los puntos eje.

Existen áreas de recolección de muestras convergentes entre las áreas 2 y 3 y entre las áreas 3 y 4, denominadas subáreas A y B respectivamente. No se encontraron muestras en el subárea A, pero en el sub área B, se encontraron 3.

Mapas de las zonas a estudiarse se obtuvieron gracias al servidor de georreferenciación Google Maps, perteneciente a Alphabet Inc.



Figura 5. Fotografía durante la obtención de muestras dentro del perímetro establecido.

2.5.4. Toma de muestras

Mediante al empleo de sugerencias de Sean Lucan y colaboradores (Lucan et al., 2013, 2014) se recolectaron las muestras de alimentos dentro de horarios de oficina en días hábiles sin precipitaciones atmosféricas, por dentro del perímetro seleccionado y siguiendo las instrucciones de acopio de muestras que se encuentra en el Anexo 1.

2.5.5. Transporte de muestras

Las muestras fueron transportadas en un periodo no superior a 16 horas desde la primera compra hasta su llegada al laboratorio en un envase portátil de volumen suficiente, con capacidad de impedir la emisión o el ingreso de ondas infrarrojas.

2.6. ANÁLISIS DE LABORATORIO

Una vez en el laboratorio, se dispusieron 9 tubos de vidrio pyrex de 12 mililitros de capacidad con campanas de Durham invertidas, con 9 mililitros de caldo verde brillante bilis al 2 %, suplementado con 5 microgramos por mililitro de cefotaxima. Se rotula a cada tubo con el número de la muestra asignado, una letra (A-I) a cada uno de los tubos. En el tubo A, B y C (grupo 1) se coloca 1 mililitro o 1 gramo de alimento, para posteriormente insertarlo en un mezclador de vórtice por 7 segundos.

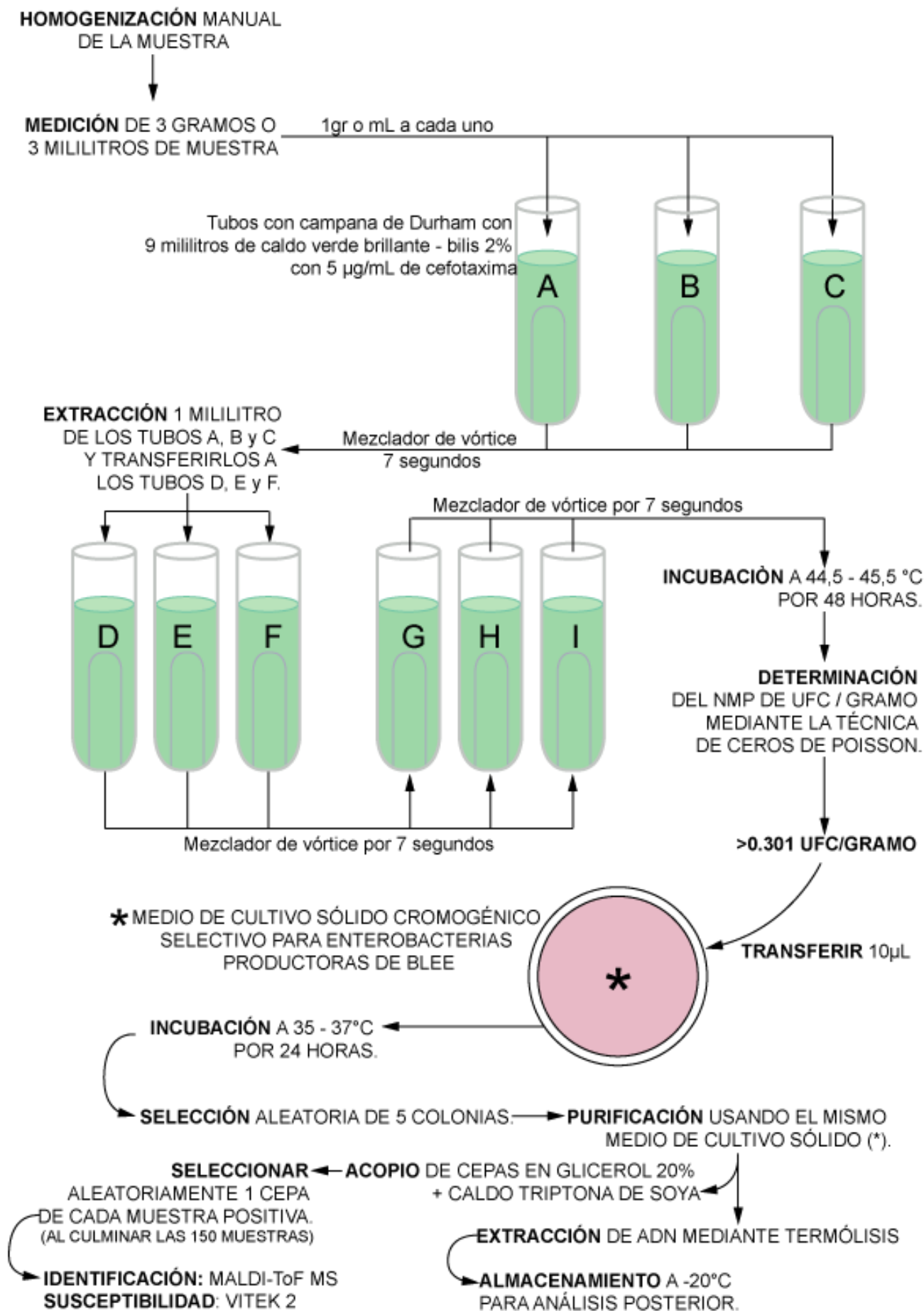


Figura 6. Análisis microbiológico de las muestras.

De los tubos del grupo 1, se toma 1 mililitro y se dispone en los tubos D, E y F (grupo 2), se realiza el mismo mezclado en vórtice y finalmente en los últimos tres tubos (G, H y I) se coloca un mililitro los tubos del grupo 2. De esta forma se tienen 9 tubos con 3 concentraciones, los del grupo 1, con una concentración 10^{-1} , los del 2: 10^{-2} , y los del 3: 10^{-3} . El caldo verde brillante-bilis 2%, inhibirá el crecimiento de bacterias gram positivas, la cefotaxima seleccionará y permitirá el crecimiento de únicamente los organismos capaces de producir enzimas que inactiven cefalosporinas de amplio espectro (particularmente cefotaximasas). Los tubos se colocarán en una estufa a una temperatura de 44,5 °C y 45,5°C, por 48 horas, permitiendo únicamente el crecimiento de aquellos organismos que después de haber sobrevivido al medio de cultivo y a la cefotaxima, sean además capaces de tolerar estas temperaturas. Por lo tanto, estas restricciones permitirán la supervivencia y proliferación únicamente de aquellos bacilos gram negativos, fermentadores de lactosa, con resistencia a cefotaxima y que no pierdan la capacidad de sintetizar proteínas a estas temperaturas, según la bibliografía revisada, en un 80% de los casos esta selección permitirá únicamente el crecimiento de *Escherichia coli* BLEE, considerada un coliforme fecal y un indicador fiable de la contaminación fecal reciente, en otros de los casos, podrían crecer otro tipo de coliformes, que también se relacionan a contaminación fecal reciente y que mediante modificaciones genómicas han sido capaces de sobrevivir a las temperaturas altas a las que puede exponerse *Escherichia coli* sin morir, pudiendo ser algunas especies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, etc. En caso de proliferar estas bacterias, significaría que han logrado reunir el material genético necesario para evitar la muerte a esas temperaturas (Marti et al., 2016; Mercer et al., 2015). Al cabo de las 48 horas establecidas por la técnica de número más probable, se determina qué tubos se encuentran positivos, la positividad de un tubo será evaluada mediante la existencia de gas en las campanas de Durham y el incremento de la turbidez del caldo. En función del número de tubos positivos por cada dilución se ingresarán los datos en el programa Most Probable Number Calculator, el cual arrojará el

número más probable de unidades formadoras de colonia por gramo de alimento. Posterior a esto: del tubo con mayor producción de gas, se transferirán 10 microlitros de caldo cultivado a una placa de Petri con CHROMagar ESB, un medio de cultivo sólido capaz de seleccionar y diferenciar enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido. Al cabo de 24 horas y a 35-37°C se determinará y evaluará el crecimiento bacteriano en colonias en el medio de cultivo mencionado. Según el fabricante, las colonias rosadas pequeñas, corresponde a *Escherichia coli*, las colonias violetas o azules corresponderán a algún otro género de bacterias como *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, entre otros. Las colonias blancas podrían ser especies de *Acinetobacter* y las colonias incoloras podrían pertenecer a *Pseudomonas*. Exceptuando en caso de *Escherichia coli*, el resto de colonias, deberán someterse a pruebas adicionales para confirmar su especie. Posterior al crecimiento en el subcultivo, se transferirán colonias puras al mismo medio de cultivo sólido para aislar y purificar. Se tomarán 5 colonias por cada muestra positiva y se incubarán por 24 horas a 37°C. Al cabo de este tiempo, se obtendrá DNA de cada una de las cepas seleccionadas mediante el método de termólisis y además se aislarán las cepas para mantenerlas en congelación suspendidas en una solución 1:1 de caldo tripticasa de soya y glicerol. Una vez procesadas las 150 muestras, se tomará al azar una de las cepas congeladas y se confirmará su especie mediante MALDI ToF. De la cepa seleccionada para confirmación de especie, se realizará el perfil de resistencia bacteriana mediante el sistema Vitek 2 con la tarjeta AST-N272. Adicionalmente se determinará mediante la técnica de Kirby Bauer la sensibilidad a la cepa ante ampicilina y a trimetoprim sulfametoxazol.

2.7. MEDIOS DE CULTIVO Y TÉCNICAS DE LABORATORIO UTILIZADAS

2.7.1. Caldo verde brillante bilis 2% con cefotaxima 5 µg/ml

Este medio de cultivo está recomendado para el recuento de coliformes totales y fecales, por la técnica del número más probable en tubos con campanas de Durham. En el medio de cultivo, la peptona aporta los nutrientes necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano, la bilis y el verde brillante son los agentes selectivos que inhiben el desarrollo de bacterias Gram positivas y Gram negativas a excepción de coliformes, y la lactosa es el hidrato de carbono fermentable. Es una propiedad del grupo coliforme, la fermentación de la lactosa con producción de ácido y gas (Britania Lab, 2014). Se añadió cefotaxima 5 µg/ml para seleccionar aquellos organismos capaces de hidrolizar este betalactámico de amplio espectro.

2.7.2. Técnica del número más probable con ceros de Poisson

La técnica de Ceros de Poisson para determinar el número más probable de colonias de coliformes en un alimento, es un método útil e infrautilizado para estimar la concentración de organismos viables en una muestra determinada mediante la dilución seriada de las muestras en un caldo nutritivo con lactosa y campanas de Durham invertidas para la determinación de producción de gas a partir de la fermentación de la lactosa. Es especialmente útil para detectar concentraciones bajas en alimentos de estas bacterias. El método asume que las bacterias se encuentran aleatoriamente contaminando un alimento. Se realiza un número establecido de diluciones de las muestras para determinar la mínima concentración a la cual se puedan encontrar unidades formadoras de colonia. Es una estrategia eficiente para estimar densidades de población que se emplea cuando una evaluación cuantitativa de elementos individuales no es factible (Blodgett, 2010).

2.7.3. CHROMagar™ ESBL

CHROMagar™ ESBL es un medio de cultivo sólido cromogénico que permite la detección de bacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido, está compuesto de 15 gramos por litro de agar, 17 de peptona y 1 gramo de mezcla cromogénica, la cual es metabolizada por algunas enterobacterias por enzimas diferentes, dándole un color característico a la colonia (CHROMagar, 2016). Además está suplementado con un antibiótico de amplio espectro (seguramente cefpodoxima) que presenta una gran capacidad de selección de bacterias productoras de BLEE inhibiendo la mayor cantidad de bacterias naturalmente productoras de AmpC, característica importante ya que la resistencia intrínseca AmpC tiene menos relevancia epidemiológica (Bush, 2010; CHROMagar, 2016; Gazin, Paasch, Goossens, Malhotra-Kumar, & MOSAR WP2 and SATURN WP1 Study Teams, 2012; Poulou et al., 2014).

2.7.4. Identificación de especie bacteriana por MALDI-TOF MS.

La espectrometría de masas por tiempo de migración (tiempo de vuelo) con desorción/ionización laser asistida por una matriz (MALDI-TOF MS, por su sigla en inglés matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometer), diseñada en 1987 por el ingeniero japonés Koichi Tanaka (quien en el año 2002 fue galardonado con el Premio Nobel de Química por el desarrollo de métodos de identificación y análisis estructural de macromoléculas) (The Nobel Foundation, 2002), se utiliza en microbiología para la identificación confiable de especies bacterianas en poco tiempo (6 minutos por bacteria) y con un costo aproximadamente 5 veces más bajo que la identificación convencional (Muñoz Bellido & González Buitrago, 2015).

2.7.5. Prueba de sensibilidad a antimicrobianos por Vitek 2

Vitek 2 ® (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia) es un sistema automatizado utilizado para identificar microorganismos y determinar su susceptibilidad antimicrobiana. Es capaz de indicar confiablemente el fenotipo bacteriano en cuanto a sensibilidad brindando además la concentración inhibitoria mínima requerida para cada muestra. Provee seguridad al operador por tratarse de un sistema cerrado. Disminuye la producción de basura en el laboratorio. Permite la trazabilidad extendida y correcta de las muestras. Se utilizaron las tarjetas AST-N272, las cuales determinan la susceptibilidad a ampicilina/sulbactam, piperacilina/tazobactam, cefoxitina, ceftazidima, cefotaxima, cefepima, doripenem, ertapenem, imipenem, meropenem, amikacina, gentamicina, ciprofloxacina, tigeciclina, colistina (bioMérieux, 2016; Broeren, Maas, Retera, & Arents, 2013). De forma adicional, mediante la técnica de Kirby-Bauer se determinó la susceptibilidad a ampicilina y a trimetoprim sulfametoxazol (CLSL, 2014).

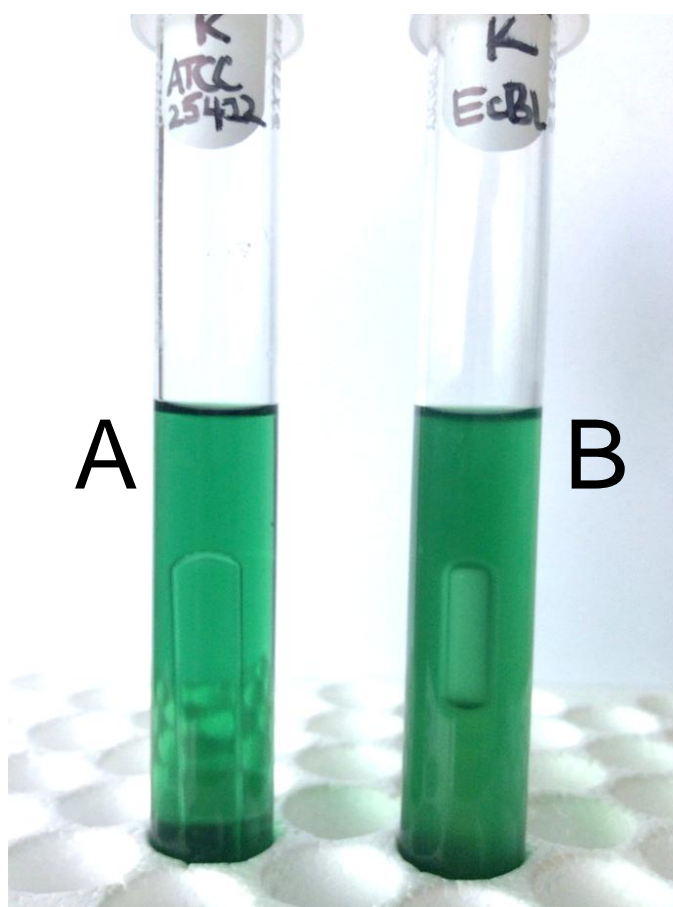


Figura 7. Controles de calidad. **A.** El tubo de la izquierda (inoculado con *E. coli* ATCC 25422) muestra la ausencia de turbidez del caldo y ausencia de gas en la campana de Durham, mientras que el tubo de la derecha (**B**) (inoculado con *E. coli* BLEE) muestra incremento de la turbidez y producción significativa de gas.

2.8. CONTROL DE CALIDAD

Se realizaron 3 controles de calidad a cada lote de caldo verde brillante bilis 2% suplementado con cefotaxima 5 µg/ml y a cada lote del medio de cultivo sólido CHROMagar ESBL el primero con *Escherichia coli* ATCC ® 25922™, el segundo con una cepa de *Escherichia coli* productora de BLEE y una tercera prueba sin inocular.

2.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se tabularon en una hoja de Excel. Para el análisis estadístico se importaron los datos al paquete estadístico para ciencias sociales SPSS versión 22. La ubicación de la adquisición de alimentos se ingresó como un sistema de coordenadas decimales en un archivo de valores separados por coma (CSV) de Microsoft Excel y posteriormente importado y analizados en la herramienta de análisis geoestadístico ArcGIS. La significancia estadística se identificó con un nivel de confianza del 95% ($P \leq 0,05$). El ADN extraído será sujeto de análisis posterior.



Figura 8. Fotografías durante la adquisición de muestras. A. Se observa la distancia entre el suelo y el alimento a expenderse. B y C. Se observa la manipulación del producto.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS

De las muestras obtenidas, se encontraron 22 bebidas, 46 alimentos constituidos principalmente por frutas en estado sólido, 39 salsas y aderezos, 31 alimentos constituidos principalmente por vegetales y hortalizas, y 12 alimentos constituidos principalmente por productos de origen animal. Los precios de los alimentos oscilaban entre 0,1 y 1,5 dólares de Estados Unidos de Norteamérica. Cincuenta y cuatro alimentos costaban menos de 0,5 USD, 38 costaban entre 0,5 y 0,99 USD y 58 costaron más de 1 USD. En promedio cada alimento costó 0,59 USD y se invirtió un total de 89,05 USD en la compra de todos los alimentos.

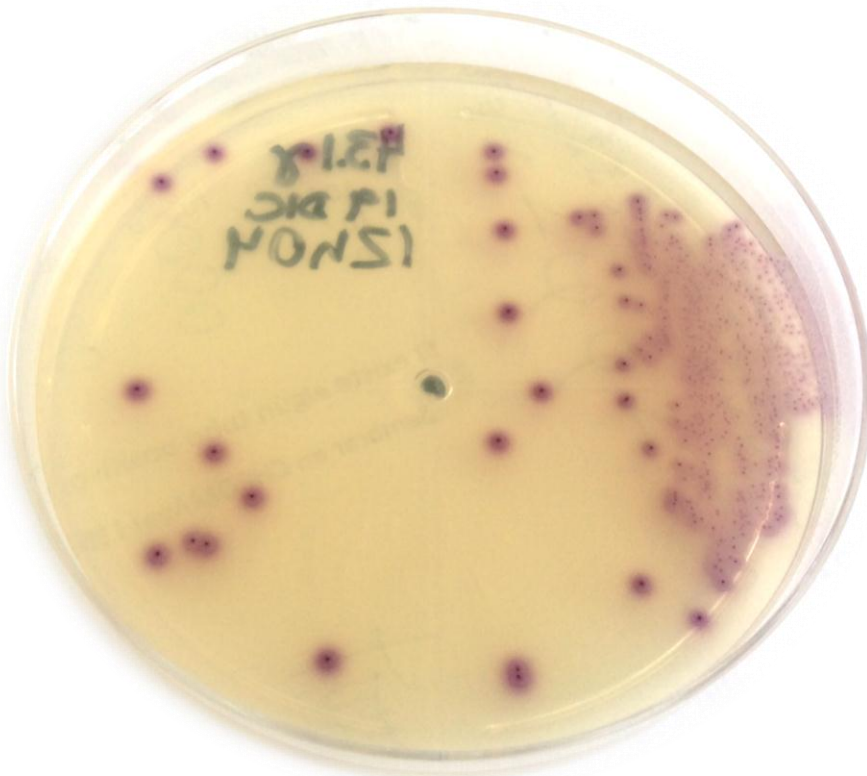


Figura 9. Medio de cultivo sólido cromogénico selectivo para enterobacterias productoras de BLEE (CHROMagar ESB) con crecimiento de colonias de *Escherichia coli*.

***Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido**

Se encontraron 20 alimentos contaminados con *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido, lo cual representa el 13,3% de los alimentos adquiridos. Estos alimentos, en promedio presentaron 1,81 unidades formadoras de colonia por gramo. Los alimentos se encontraban afectados de forma heterogénea.

Existieron dos alimentos con cargas bacterianas extremadamente altas: Ají y Ensalada de lechuga (*Latuca sativa*), con >110 unidades formadoras de colonia por gramo, ambos adquiridos en el punto 0°12'52.1" de latitud sur y 78°29'58.8" de longitud oeste (ubicado a 49 metros de la entrada al Hospital de Especialidades Eugenio Espejo). La existencia de *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido en alimentos diferentes, pero en el mismo sitio de expendio sugiere que la fuente de contaminación es fecal-humana. En el punto 0°12'7.2" sur y 78°30'3.1" oeste (a 31 metros de la entrada de la Facultad de Ciencias Administrativas de la Universidad Central del Ecuador) se encontró una muestra de salsa picante con una carga bacteriana elevada de 14,9 UFC/gramo, estos alimentos podrían causar colonización intestinal en comensales tras la ingestión de una porción pequeña.

El producto proporcionalmente más afectado pertenecía al grupo de los alimentos compuestos principalmente por vegetales: cevichochos, que se refiere a una mezcla con presencia constante frutos del género *Lupinus*, con maíz tostado en un caldo de viscosidad variable constituido por extracto de tomate (*Solanum lycopersicum*) con rodajas de cebolla (*Allium cepa*), agua (Pujol, 2012) (pudiéndose encontrar en ocasiones extracto de limón (*Citrus limón*), hojuelas de plátano verde (*Musa paradisiaca*) fritas, cuero de cerdo cocinado, cilantro (*Coriandrum sativum*) etc.), el cual presentaba una contaminación por esta bacteria en un 46,6%. El segundo producto proporcionalmente más afectado pertenecía al grupo de salsas y aderezos: correspondiente a las salsas picantes cuya fuente de 8-metil-N-vanillil-6-nonenamida era visiblemente frutos de plantas

del género *Capsicum* y una mezcla variable de ingredientes no identificados, que presentaban una contaminación del 18,8%.

No se encontró *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido en ninguno de los veintidós productos bebibles expendidos (que mayoritariamente incluían extracto de cítricos y elixires fríos con *Aloe vera* o chía (*Salvia hispánica*)) excepto en un producto hecho a base de líquido extraído de *Furcraea andina*, llamado chaguamishqui o dulce de cabuya (Rapido, 2016). De los doce alimentos de origen animal que se analizaron, se encontró *Escherichia coli* BLEE en tres: dos correspondientes a librillo crudo de vacuno y una de queso. Los alimentos de origen animal presentaron un 25% de contaminación por esta bacteria.

Todas las muestras de *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido presentaron resistencia absoluta a cefotaxima, requiriendo concentraciones inhibitorias mínimas superiores a 64. Tan solo existió un alimento contaminado con *Escherichia coli* sensible a trimetoprim sulfametoxazol, proveniente de cevichochos en un lugar próximo al hospital pediátrico Baca Ortiz. De las 20 cepas de *Escherichia coli* analizadas, el 50% presentó sensibilidad a ampicilina + sulbactam. Todas presentaron concentraciones inhibitorias mínimas bajas y suficientes para piperacilina-tazobactam. Existió una muestra con sensibilidad intermedia a ceftoxitina. Cuatro con concentraciones inhibitorias mínimas para ceftazidima superiores a 16. Existió una cepa con un MIC >64 para cefepima. Todas las colonias aisladas presentaron concentraciones inhibitorias mínimas a cefotaxima superiores a 64 y a pesar de que existieron cepas sensibles *in vitro* a otras cefalosporinas, una infección humana causada por estas bacterias no podría ser manejada con estos fármacos. La efectividad de las otras cefalosporinas estaría amenazada por resistencia cruzada, ninguna debería ser usada (CLSL, 2014; Leclercq et al., 2013; Pitout, 2010). Ninguna cepa de *Escherichia coli* presentó resistencia a carbapenémicos. Únicamente 2 cepas no presentaron resistencia asociada a

gentamicina. Únicamente existieron 2 cepas sensibles a ciprofloxacino. Todas las cepas presentaban sensibilidad a tigeciclina y colistina. Las cepas consideradas multirresistentes presentaban resistencia a más de tres familias de antimicrobianos, en virtud de eso, de las veinte muestras contaminadas, 17 presentaban un patrón multidrogorresistente. El fenotipo de coresistencia más común fue trimetoprim sulfametoxazol/betalactámicos de amplio espectro/aminoglucósidos (Tabla 3).

El 35% de las muestras positivas para *E. coli* productora de betalactamasa de espectro extendido, se encontraron en el área 2. El área 3 y 4 (Eugenio Espejo y Carlos Andrade Marín) presentaron 5 muestras positivas cada uno (25% respectivamente) y el área 1, presentó 3 muestras positivas (Tabla 5). No se encontró asociación entre el precio del producto y la presencia de *E. coli* BLEE o su carga bacteriana, en promedio, los alimentos afectados con *E. coli* BLEE costaron 0,61 USD, su costo varió de 0,1 a 1 USD.

Tabla 3. Perfil de resistencia de *Escherichia coli*.

PRODUCTO		UFC/ Gramo	Kirby Bauer mm		Vitek 2 MIC															# FAMILIAS R
NUMERO DE MUESTRA	TIPO DE ALIMENTO Y SITIO DE ADQUISICIÓN		TRIM	Betalactámicos						Carbapenémicos				AMI	GEN	CIP	TIG	COLISTINA		
				AMP	SUL	PIP TAZ	FOX	CAZ	CTX	CPM	DOR	ERT	IMI						MER	
6	A – HBO	1,14	6	6	16	≤4	≤4	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≥16	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
9	C – UPS	1,12	6	6	≥32	≤4	≤4	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
27	A – HBO	0,357	6	6	4	≤4	≤4	4	32	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	2	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
28	C – HBO	1,12	6	6	16	≤4	≤4	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	0,5	≤0,5	≤0,5	≤0,5	2
30	C – HBO	0,736	17	6	≥32	8	16	16	≥64	≥64	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≥16	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	2
40	A – UCE	14,9	6	6	4	≤4	≤4	≤1	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≥16	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
42	A – UCE	0,357	6	6	≥32	8	8	16	≥64	4	≤0,12	≤0,5	≤0,25	8	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
43	C – HFA	0,357	6	6	8	≤4	≤4	4	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	2	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
49	A – EPN	0,305	6	6	4	≤4	≤4	≤1	8	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
63	A – UCE	0,357	6	6	4	≤4	≤4	4	32	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	2	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
73	C – HIA	2,37	6	7	4	≤4	≤4	4	32	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	1	3
82	A – HIA	>110	6	6	≥32	≤4	8	16	≥64	4	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
83	E – HIA	>110	6	6	16	≤4	≤4	4	16	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
84	Q – HEE	1,99	6	6	16	≤4	≤4	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
89	C – HBO	0,736	6	6	4	≤4	≤4	≤1	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≥16	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
99	A – HBO	1,24	6	6	4	≤4	≤4	16	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
103	B – HCAM	0,357	6	6	4	≤4	8	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	≤0,25	≤0,5	≤0,5	≤0,5	2
110	C – HBO	0,305	6	6	8	≤4	≤4	4	32	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	2	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
113	L – HCAM	4,24	6	6	16	≤4	≤4	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤2	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3
148	L – HEE	0,602	6	6	≥32	≤4	≤4	4	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	4	≤1	≥4	≤0,5	≤0,5	≤0,5	3

A: AJÍ. B: CHAGUARMISHQUI. C: CEVICHOCO. E: ENSALADA DE VEGETALES. Q: QUESO. L: LIBRILLO

ROJO: RESISTENTE / ROSA: RESISTENTE INTERPRETATIVO / AMARILLO: INTERMEDIO / VERDE: SENSIBLE / VIOLETA: MULTIRRESISTENTE

Se ha establecido mediante el coeficiente de correlación de Pearson una asociación con significancia estadística (sig. 0,032) entre una distancia del alimento expandido menos a 20 centímetros desde el suelo y su contaminación con *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido (Tabla 4).

Tabla 4. Correlación Distancia del Suelo-Contaminación por *Escherichia coli* BLEE.

		Muestra Positiva	Distancia 20 centímetros superior al suelo
Muestra Positiva	Correlación de Pearson	1	-,175*
	Sig. (bilateral)		,032
	N	150	150
Distancia 20 centímetros superior al suelo	Correlación de Pearson	-,175*	1
	Sig. (bilateral)	,032	
	N	150	150

*. La correlación es significativa en el nivel 0,05 (2 colas).

Otros bacilos gram negativos encontrados

Los alimentos contaminados con bacterias diferentes a *E. coli* BLEE que lograron sobrevivir a las restricciones microbianas impuestas fueron nueve alimentos contaminados con *Klebsiella pneumoniae* productora de betalactamasa de espectro extendido, tres alimentos contaminados con *Acinetobacter baumannii* y dos contaminados con *Enterobacter cloacae*. Es decir, de las 150 muestras adquiridas, 34 presentaban algún tipo de contaminación en total. Trece correspondieron a salsa picante, ocho correspondieron a cevichos, cinco a frutas, cuatro a ensaladas de vegetales, tres alimentos de origen animal y una bebida (chaguarmishqui). Se analizaron 46 muestras de fruta sólida, de las cuales ninguna se encontraba contaminada con *E. coli* BLEE, sin embargo, existieron dos muestras de ensalada de frutas consistentes principalmente en al menos 250 gramos de piña (*Ananas comosus*), papaya (*Carica papaya*) y sandía (*Citrullus lanatus*), severamente contaminadas con >110 y 29,2 unidades formadoras de colonias por gramo de *Enterobacter cloacae* respectivamente. Esta bacteria, al igual que

Citrobacter freundii, *Morganella morganii* y *Providencia* spp. presentan AMP-C, una betalactamasa codificada cromosómicamente, la cual le confiere resistencia intrínseca a las aminopenicilinas y cefalosporinas de primera y segunda generación, por lo cual no existe sorpresa al momento de encontrar resistencia frente a estos fármacos, sin embargo llama la atención que las concentraciones inhibitorias mínimas para ceftazidima y cefotaxima eran superiores a 64, lo cual puede sugerir que son casos de hiperproducción de AMP-C. Dentro del grupo de las frutas sólidas, se aisló una muestra que contenía los mismos ingredientes principales de las contaminadas con *Enterobacter cloacae*, contaminada con >110 unidades formadoras de colonias por gramo de *Klebsiella pneumoniae* BLEE. En aquellos casos, las muestras provinieron de un sitio no más lejano que 10 metros de la entrada principal del Hospital Eugenio Espejo y Carlos Andrade Marín. Se encontraron 3 muestras contaminadas con *Acinetobacter baumannii* ubicadas en torno al punto 0°12'8.6" de latitud sur y 78°29'9,9" de longitud oeste, que se encuentra en el área 4, correspondiente a la acera norte del Hospital Especializado Baca Ortiz (Tabla 7). Las probabilidades de que se trate de contaminación cruzada durante el transporte o adquisición de muestras o durante su procesamiento son nulas, debido a que las muestras pertenecen a alimentos diferentes, comprados en días diferentes y procesados en lotes de medios de cultivo preparados en días diferentes.

Tabla 5. Contaminación de muestras por área.

		Muestras	Número de muestras contaminadas	Contaminación proporcional				
					E	K	C	A
Área 1	PUCE-HFA	38	4	10,52%	3	1	0	0
Área 2	UDLA HBO	38	13	34,21%	7	3	0	3
Área 3	UCEMED HEE	38	7	18,42%	5	1	1	0
Área 4	UCE HCAM	36	10	27,7%	5	4	1	0
Total		150	34					

E: *Escherichia coli* BLEE. - K: *Klebsiella pneumoniae* BLEE.

C: *Enterobacter cloacae*. - A: *Acinetobacter baumannii*

Tabla 6. Contaminación de muestras por tipo de alimento.

	Muestras	Con crecimiento bacteriano	Porcentaje contaminación bacterias	E	K	C	A
Bebidas	22	1	4,5%	1	0	0	0
Frutas	46	5	10,8%	0	1	2	2
Salsas	39	13	33,3%	8	4	0	1
Vegetales	31	12	38%	8	4	0	0
O. animal	12	3	25%	3	0	0	0
Total	150	34	22% (Total)	20	9	2	3

E: *Escherichia coli* BLEE. - **K:** *Klebsiella pneumoniae* BLEE.
C: *Enterobacter cloacae*. - **A:** *Acinetobacter baumannii*

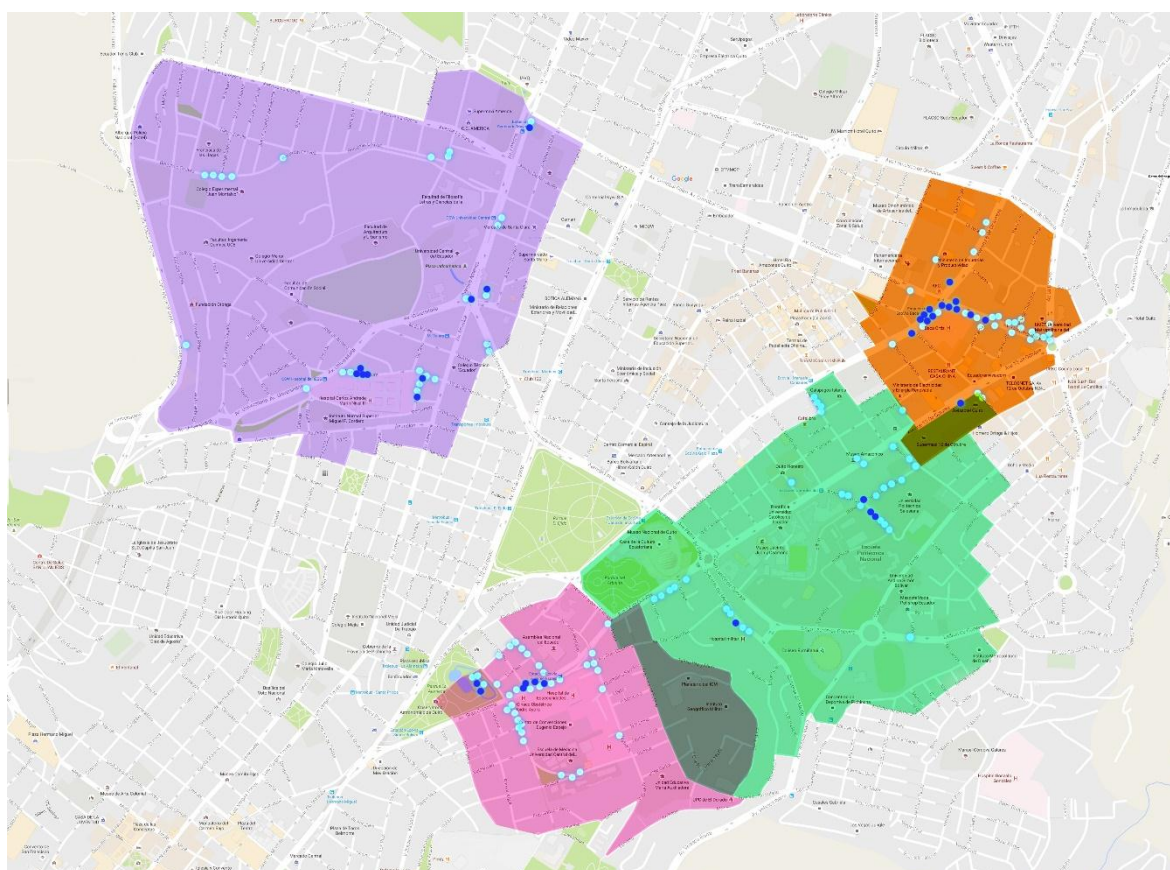


Figura 10. Mapa que indica la totalidad de las muestras adquiridas (celeste: negativo - azul: positivo).

Tabla 7. Patrón de susceptibilidad antimicrobiana de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* y *Acinetobacter baumannii*.

			UFC/ Gramo	TRIM	Betalactámicos							Carbapenémicos							# FAMILIAS R		
					AMP	SUL	PIP TAZ	FOX	CAZ	CTX	CPM	DOR	ERT	IMI	MER	AMK	GEN	CIP		TIG	COL
Klebsiella pneumoniae	66	A – HEE	1,23	6	6	≥32	16	≤4	8	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	4	≥16	2	1	≤0,5	3
	87	C – HBO	0,305	24	6	4	≤4	≤4	64	8	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≥16	1	≤0,5	≤0,5	2
	107	E – HCAM	1,24	6	6	≥32	8	8	≤1	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≥16	1	≤0,5	≤0,5	3
	111	A – HFA	0,736	6	6	16	≤4	≤4	≤1	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≥16	0,5	1	≤0,5	3
	114	A – HCAM	2,11	6	6	≥32	8	≥64	4	≥64	≤1	≤0,12	4	1	≤0,5	≤2	≥16	≤0,25	≥8	≤0,5	5
	118	F – HCAM	110	6	6	≥32	≤4	≤4	≤1	≥64	2	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	0,5	≤0,5	≤0,5	2
	120	E – HCAM	2,05	6	6	16	≤4	≤4	≤1	8	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≥16	0,5	1	≤0,5	3
	126	A – HBO	1,14	6	6	≥32	≤4	≤4	≤1	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	0,5	1	≤0,5	2
	144	E – HBO	1,14	6	6	≥32	≤4	≤4	≤1	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	0,5	1	≤0,5	2
E. cloacae	67	F – HEE	14,9	26	6	≥32	≥28	≥64	≥64	≥64	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	≤0,25	≤0,5	≤0,5	1
	109	F – HCAM	110	26	6	≥32	≥128	≥64	4	8	≤1	≤0,12	≤0,5	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	≤0,25	1	≤0,5	1
A. baumannii	115	F – HBO	14,9	20	12	≤2	≤4	≥64	4	16	2	≤0,12	N/A	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	≤0,25	≤0,5	≤0,5	1
	123	A – HBO	2,11	23	6	≤2	≤4	≥64	4	8	2	≤0,12	N/A	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	≤0,25	≤0,5	≤0,5	1
	142	F – HBO	1,14	20	11	≤2	≤4	≥64	4	16	2	≤0,12	N/A	≤0,25	≤0,25	≤2	≤1	≤0,25	≤0,5	≤0,5	1

A: AJÍ. B: CHAGUARMISHQUI. C: CEVICHOCO. E: ENSALADA DE VEGETALES. Q: QUESO. L: LIBRILLO

ROJO: RESISTENTE / ROSA: RESISTENTE INTERPRETATIVO / AMARILLO: INTERMEDIO / VERDE: SENSIBLE / VIOLETA: MULTIRRESISTENTE

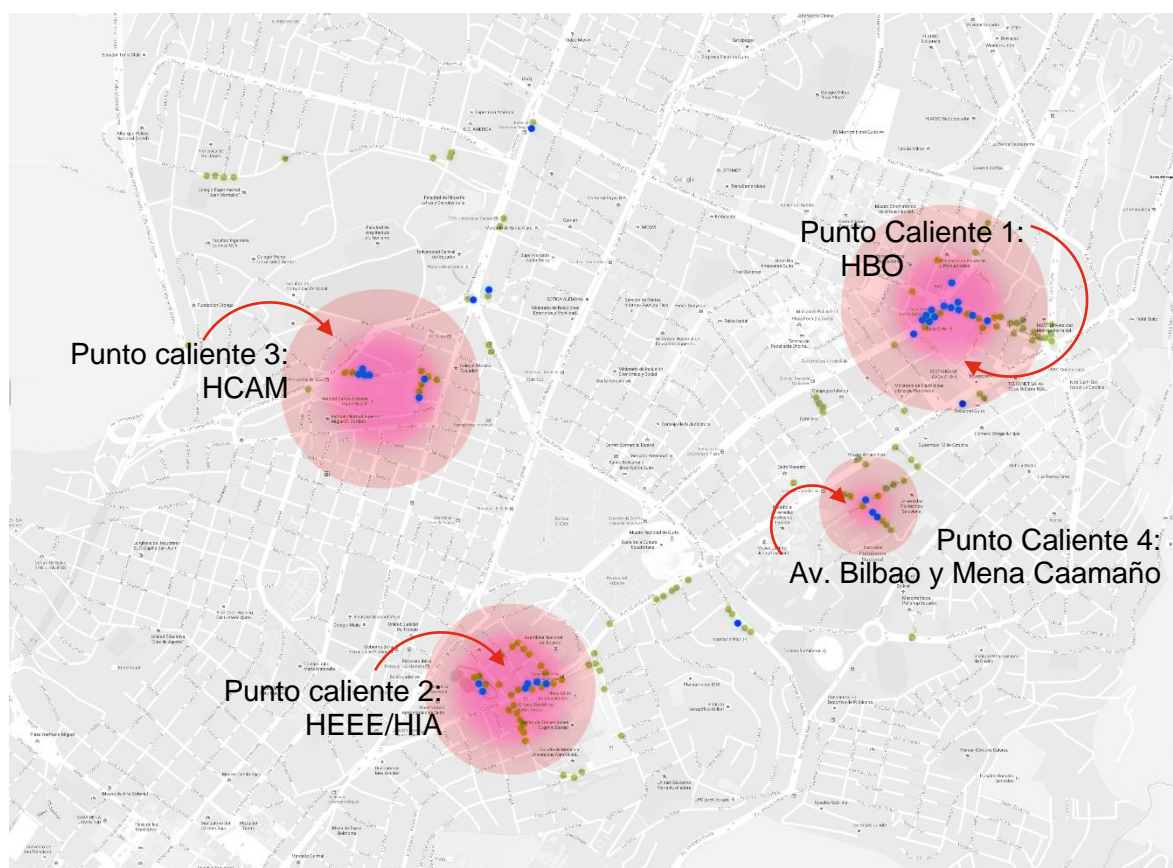


Figura 11. Puntos calientes (se consideran puntos calientes a aquellas zonas donde existan tres muestras positivas en un trayecto no mayor a 100 metros).

Tabla 8. Pruebas de χ^2 .

	Valor	Gl	Sig. asintótica (2 caras)	Significación exacta (2 caras)	Significación exacta (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	17,477 ^a	1	,000		
Corrección de continuidad ^b	15,603	1	,000		
Razón de verosimilitud	15,722	1	,000		
Prueba exacta de Fisher ^b				,000	,000
Asociación lineal por lineal	17,360	1	,000		
Prueba de McNemar				,000 ^c	
N de casos válidos	150				

a. 0 casillas (0,0%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 7,93.

b. Sólo se ha calculado para una tabla 2x2

c. Distribución binomial utilizada.

Tabla 9. Correlación distancia radial desde el hospital vs muestras positivas.

		Muestra Positiva	Distancia en Metros
Muestra Positiva	Correlación de Pearson	1	-0,341**
	Sig. (bilateral)		0,000
	N	150	150
Distancia en Metros	Correlación de Pearson	-0,341**	1
	Sig. (bilateral)	0,000	
	N	150	150

** . La correlación es significativa en el nivel 0,01 (2 colas).

De las 34 muestras positivas para crecimiento de algún bacilo gram negativo, 17, es decir el 50% de muestras positivas se encontraron en un radio no superior a 100 metros desde la entrada peatonal al servicio de emergencias del hospital más cercano. La correlación presenta significancia estadística, con un valor de p menor a 0,001.

No se encontraron asociaciones estadísticamente significativas entre la presencia de *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido y su exposición relativa con el medio ambiente, con la forma de manipular o instrumentar los alimentos.

El tipo de alimento fue determinante para la presencia de *Escherichia coli* productora de BLEE, las probabilidades de que se tratara de un alimento contaminado incrementaban cuando se trataba de cevichocho o de ají. Existió una relación proporcional entre mayor precio de alimento y su protección con el medio ambiente estableciendo barreras físicas, sin embargo de igual forma esto no tuvo relación con la existencia o no de bacterias en los productos expendidos.

Tabla 10. Muestra positiva vs distancia en metros tabulación cruzada.

		Distancia en Metros		Total
		Más de 100 metros	Menos de 100 metros	
Muestra Positiva	Positivo	17	17	34
	Negativo	98	18	116
	Total	115	35	150

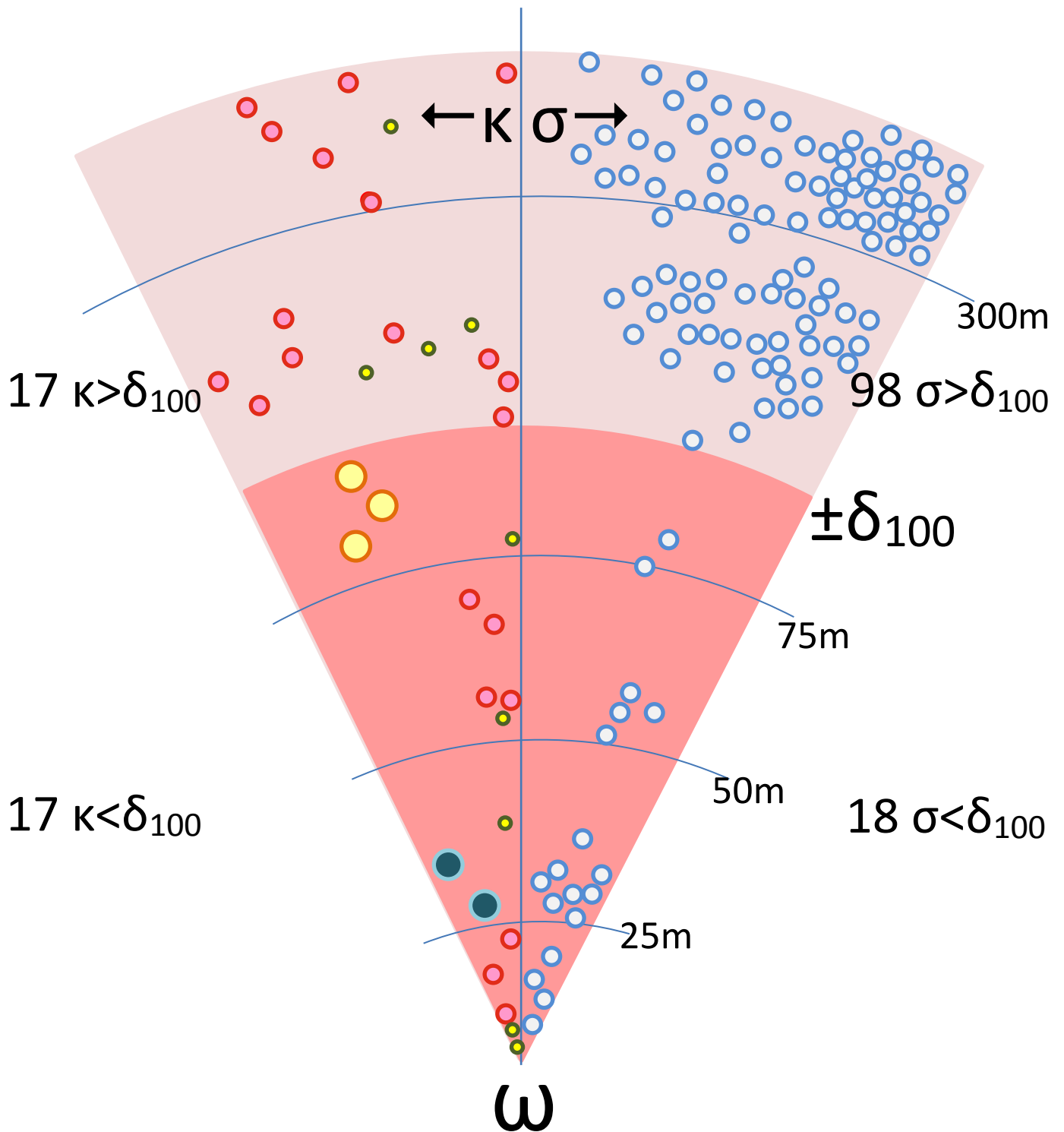


Figura 12. Esta figura representa el solapamiento de los puntos ω , que corresponden al sitio alejado 0 metros del ingreso peatonal al área de emergencias del hospital más cercano a los puntos (κ/σ) de expendio del alimento.

Línea δ_{100} : corresponde a 100 metros de distancia radial desde el punto ω .

Puntos κ : Positivos

○ Puntos σ : Negativos

● *Acinetobacter baumannii*

● *Enterobacter cloacae*

● *Escherichia coli*

● *Klebsiella pneumoniae*

CAPÍTULO IV

4. DISCUSIÓN

La transmisión de bacterias portadoras de resistencia a cefalosporinas de tercera generación a través de alimentos vendidos en la vía pública es indisputable. Cada vez existen menos recursos farmacológicos para combatir el aumento de la proliferación de bacterias multirresistentes y panresistentes, por lo que el evitar la transmisión de bacterias resistentes ayuda a frenar la diseminación de genes de resistencia por vía horizontal a más bacterias en más seres humanos. Cualquier fuente de resistencia debe ser controlada de forma estricta tan pronto como se conozca su procedencia para preservar la salud pública y evitar la diseminación de genes de resistencia a más cepas o especies bacterianas. Prevenir y controlar la emergencia, selección y diseminación de resistencia debe ser una prioridad para las autoridades de salud y en la industria alimenticia.

La presencia de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en estudios en otros lugares del mundo arrojan resultados heterogéneos, yendo desde el 0% en alimentos provenientes de la costa Mediterránea (Tham et al., 2012), hasta niveles altos como en un estudio realizado en Zúrich (Zurfluh et al., 2015) donde se evaluó microbiológicamente 169 muestras de vegetales que ingresaron a Suiza durante el verano del 2014, provenientes de India, Tailandia, Vietnam y República Dominicana y se encontró que un 25,4% de las muestras presentaron alguna enterobacteria productora de betalactamasa de espectro extendido. Existe evidencia de que el transcurrir de los años eleva la prevalencia de estas bacterias en los alimentos y en el ámbito clínico (Tadesse et al., 2012), y que esto se correlaciona con la exposición humana a antibióticos de forma innecesaria y exagerada (Butler et al., 2007).

Los alimentos mayormente contaminados en el presente estudio involucran alimentos con gran cantidad de ingredientes de origen vegetal (cevichochos y salsas picantes) por lo

cual es de gran importancia determinar si el origen de los alimentos también juega un rol importante.

En el presente estudio se encuentra que los productos con ingredientes vegetales se encuentra contaminado en un 38,7% (12/31), en Ecuador, los vegetales se cultivan de forma local y existe evidencia de que existen niveles inaceptables de enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido en aguas de riego (Nüesch-Inderbinen et al., 2015), donde se utilizan antibióticos como promotores de crecimiento en el ganado y que además existe un nulo control del excremento de estos animales, lo cual expone al suelo de cultivo a una cantidad masiva de bacterias potencialmente peligrosas. Esto supone un reto para la industria alimentaria local, debido a que algunas bacterias no necesariamente se encuentran contaminando la superficie de los vegetales cultivados, sino que además son capaces de invadir el tejido vegetal, haciendo imposible el alimento sea servido de forma segura de forma cruda, a pesar de estar lavada (Bhutani et al., 2015; Solomon, Yaron, & Matthews, 2002; Wright et al., 2013).

La carne de aves y los vegetales suelen identificarse como fuentes de enterobacterias portadoras de genes de resistencia (Bhutani et al., 2015; van Hoek et al., 2015), un estudio en los Países Bajos, demostró que los vegetales en efecto lo son (Reuland et al., 2014), encontrando en 119 muestras, un 6% de prevalencia. En cinco regiones del Reino Unido, se adquirieron 797 alimentos de origen animal y vegetal. Una proporción baja de carne roja estuvo contaminada con *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectroextendido (res 1,9% y cerdo 2,5%), sin embargo la carne de pollo tuvo una contaminación del 65,4%, sorprendentemente ninguna fruta o vegetal se encontró contaminado (Randall et al., 2017).

Se había establecido una relación entre los viajes al subcontinente hindú y la colonización de los viajeros con enterobacterias productoras de betalactamasa de espectro extendido (Tängdén et al., 2010), los individuos que realizaron dichos viajes,

posiblemente adquirieron las bacterias a través de la cadena alimenticia, se realizó un estudio en Hyderabad (Rasheed, Thajuddin, Ahamed, Teklemariam, & Jamil, 2014) el cual incluyó 150 muestras de varios alimentos, encontrando una presencia del 4% de *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido. En este estudio, los alimentos de origen animal estudiados se encuentran contaminados en un 25% por *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido, más que en un estudio realizado en Turquía analizando únicamente alimentos de origen animal, donde se encontró un 17,6% de contaminación (Tekiner & Özpınar, 2016). Un estudio más reciente en Chhattisgarh (Bhoomika et al., 2016), utilizando 330 muestras, reveló la contaminación de alimentos de origen animal por *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido en el 57,87%. En Corea del Sur, donde se realizan controles de calidad estrictos en los alimentos de venta ambulante, se analizaron 189 productos vegetales listos para comer, encontrando 10,1% de contaminación por *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido y/o *Klebsiella pneumoniae* productora de betalactamasa de espectro extendido (Kim et al., 2015), el 94,7% de los alimentos contaminados estaban compuestos principalmente por brotes de vegetales crudos, al igual que en el presente estudio, lograron determinar un fenotipo corresponsante con otros antibióticos no betalactámicos: trimetoprim sulfametoxazol, ciprofloxacino y gentamicina. En Túnez, se analizaron 79 muestras de alimentos obtenidos de forma local, de los cuales el 12,6% se encontraba contaminado con *Escherichia coli* productora de betalactamasa (Slama et al., 2010). En Sevilla, se analizaron 140 alimentos listos para comer, únicamente se encontró *Escherichia coli* productora de betalactamasa de espectro extendido en 1 muestra de ensalada de vegetales (Egea et al., 2011).

En el presente estudio se indica que un 68% de los productos vendidos se encontraban a más de 20 centímetros del suelo y el 32% por debajo de esta distancia, se logra comprobar que la distancia desde el suelo es un factor de riesgo para que un alimento se

encuentre contaminado con bacilos gram negativos resistentes. En un estudio realizado en la ciudad de Shijiazhuang, se logró determinar que únicamente el 6% de los vendedores ambulantes había recibido información formal entorno al manejo adecuado de alimentos, lamentablemente en China, no existen estándares a escala nacional, lo que sí ocurre en el Ecuador, donde el instituto Ecuatoriano de Normalización (Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN, 2013) en cuanto al manejo de alimentos son claras en cuanto al almacenamiento y manejo de alimentos de consumo humano, sin embargo, los controles para los vendedores ambulantes no son suficientemente estrictos, haciendo que los alimentos que venden sean fuentes de genes de resistencia para la comunidad. En este mismo estudio en Shijiazhuang, el 90% de los vendedores ambulantes manipula alimentos con las manos desnudas, en el presente estudio se encontró que el 42% de los vendedores ambulantes lo hace, sin embargo esto no estuvo relacionado con contaminación bacteriana. Únicamente el 20% de los vendedores ambulantes en el presente estudio utilizó un mandil de color claro, como indica la norma INEN, esto tampoco tuvo una correlación con la contaminación en los alimentos. El 48% de los vendedores ambulantes en el presente estudio estableció una barrera física entre los productos a expendirse y el medio ambiente, en China el 21% lo hizo, pero tampoco hubo relación entre esto y la contaminación (ZengRan et al., 2014). La utilización de guantes durante la manipulación y expendio de alimentos no constituye un factor de protección (Tschudin-sutter et al., 2016) si estos son utilizados por periodos extendidos y si se utilizan las manos enguantadas para otros menesteres como procesamiento de carnes crudas e inmediata manipulación de vegetales listos para comer, o para efectuar transacciones crematísticas (que incluyan billetes viejos especialmente), es mis resultados no existió relación significativa entre el no uso de guantes y contaminación por bacilos gram negativos resistentes.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

La ausencia de correlación entre las prácticas de manipulación / uso de barreras de protección física por parte de los vendedores y la presencia de bacterias resistentes a cefalosporinas de amplio espectro hace que el enfoque de la contaminación fecal-humana se desvíe hacia los factores intrínsecos del alimento y a otro tipo de factores externos. Se ha establecido una correlación significativa entre la distancia del alimento con respecto al suelo y con respecto a su ubicación de expendido. La naturaleza multicausal y multidimensional de la contaminación por estas bacterias, exige la búsqueda de todos los posibles focos de contaminación, se sabe que los reservorios de bacterias multirresistentes pueden encontrarse desde su producción como materia prima, hasta poco antes de su consumo. La caracterización molecular de plásmidos obtenidos de muestras clínicas de infecciones bacterianas con estos fenotipos, contrastada con la caracterización de plásmidos obtenidos de las muestras de este estudio, podría acentuar la responsabilidad de la cadena alimenticia y la colonización intestinal por estas bacterias como se ha hecho en otros estudios (Leverstein-van Hall et al., 2011).

LIMITACIONES

Varias limitaciones se pueden identificar en este estudio. No se realizó ninguna entrevista directa con el vendedor de los alimentos de expendio ambulante. La información que se pudo haber obtenido pudo haber aclarado existencia de servicios básicos, escolaridad, hábitos, forma de preparación, origen de los ingredientes, entre otros datos de interés que pudieron haber establecido una correlación entre la contaminación y los mencionados factores. No se estableció la existencia de disposición adecuada de desechos en la lista de chequeo. La homogenización de los alimentos fue de forma manual, usualmente se utilizan bolsas Stomacher® para este propósito. Durante la fase

analítica del estudio, el apego a los objetivos específicos hizo que existieran restricciones microbiológicas estrictas para la selección de bacilos gram negativos fermentadores de lactosa resistentes a cefalosporinas de amplio espectro, perdiendo la capacidad de identificación de enterobacterias no resistentes pero patógenas como *Escherichia coli* shigatoxigénica no resistente. Esto, aunado a la ausencia de una fase de preenriquecimiento de las muestras, limitó la selección de organismos con requerimientos nutricionales adicionales, como *Salmonella*.

FORTALEZAS

El laboratorio donde se ejecutó el análisis microbiológico de las muestras se encuentra certificado bajo la norma ISO 9001:2008 y presenta controles de calidad interno y externo. La técnica utilizada para el análisis microbiológico involucra una cantidad grande de recursos de restricción para favorecer y seleccionar el crecimiento exclusivo de bacilos gram negativos productores de betalactamasa de espectro extendido, particularmente cefotaximasa-München, que tiene relevancia clínica y epidemiológica. Las técnicas de análisis microbiológico en alimentos que presenten bacterias portadoras de resistencia antimicrobiana difieren ampliamente de estudio a estudio y son generalmente cualitativas, una fortaleza importante de este estudio es la cuantificación de la carga bacteriana mediante la técnica de Ceros de Poisson, la cual nos permite identificar los alimentos potencialmente más peligrosos. La fase preanalítica del estudio tuvo una prueba piloto, que evidenció la adecuada capacidad instalada del laboratorio donde se ejecutaron las pruebas ulteriores y además permitió aproximarse a una prevalencia preliminar de los resultados finales.

5.2. RECOMENDACIONES

El uso de medicamentos en el ámbito humano y veterinario debe ser controlado de forma estricta. El uso de sustancias antimicrobianas en caso de enfermedades virales, la mala dosificación, el uso de dosis subterapéuticas, la automedicación con antibióticos y el expendio libre de estos fármacos debe ser prohibida y penada por las autoridades para restringir la exposición del medio ambiente y a los seres humanos de sustancias que aceleran la pandemización de genes de resistencia en organismos patógenos y no patógenos para el ser humano.

Prevenir el aparecimiento de bacterias multidrogoresistentes y proteger los alimentos de contaminarse con estos organismos, resulta ser un problema complejo. El uso excesivo o innecesario de medicamentos ocurre con cierta frecuencia en el ámbito clínico ambulatorio, donde se administran antibióticos en infecciones virales o cuando se administran antibióticos en infecciones bacterianas desconociendo su perfil de sensibilidad, algunos pacientes presentan poca adherencia al tratamiento y lo discontinúan por efectos secundarios o al sentir mejoría. En varios países, incluyendo el Ecuador, la población busca alivio a condiciones de etiología no necesariamente bacteriana en sustancias antibióticas, las cuales se venden de forma libre, sin necesidad de presentar prescripción médica, lo cual debe ser modificado: limitando la venta de dichas sustancias de forma libre, educando a los profesionales de la salud en cuanto a conocimientos básicos de la diseminación de resistencia bacteriana, realización de diagnósticos y tratamientos adecuados para enfermedades infecciosas, educando a la población sobre la adecuada disposición de residuos de sustancias antibióticas y desalentando el uso no indicado de estas, eliminando la equivocada y arraigada idea de que cualquier convalecencia mejorará tras la administración de tales sustancias.

Se debe incrementar la identificación y caracterización de bacterias causantes de enfermedades en seres humanos y analizar de igual manera los alimentos de consumo masivo.

Consensuar el aprendizaje y aplicación de normas de higiene en vendedores ambulantes, minimizando la probabilidad de transportar genes de resistencia en las bacterias existentes en los alimentos que expenden, por ejemplo aislar los alimentos de los contaminantes aéreos, establecer una distancia mayor de 15 metros desde el punto de acopio de basura y desperdicios más cercano. Los alimentos a expendirse deben ser cubiertos. Contar con un punto de salida de agua potable el cual no presente ni un solo coliforme fecal por litro (Proietti et al., 2014). Vigilar de forma extensa y cuidadosa la producción y expendio de salsas picantes y cevichochos, detectar casos de contaminación y suspender puntos de expendio de alimentos contaminados hasta superar fases de mejoramiento de la producción. Determinar cuál o cuáles son los factores más importantes para que los aderezos picantes y cevichochos presenten bacterias portadoras de resistencia a cefalosporinas de tercera generación.

El uso de biocidas debe ser restringido hasta conocer su eficacia y la concentración selectiva mínima, que es la concentración más baja a la cual un biocida es capaz de seleccionar o inducir la aparición o expresión de algún mecanismo de resistencia a antibióticos en un determinado grupo bacteriano por un tiempo de exposición específico.

Encontrar estrategias viables durante el expendio de alimentos que puedan disminuir o restringir el crecimiento bacteriano, como la cocción o la disminución del potencial de hidrogeno promedio.

La resistencia bacteriana no es un tema aislado ni nuevo, constituye un fenómeno natural que sea ha acelerado en las últimas décadas por el consumo amplio, escasamente controlado e irracional de moléculas con capacidad bactericida o bacteriostática, el determinar fuentes de transmisión de bacterias portadoras de genes de resistencia

determina el inicio del control de esta transmisión de características pandémicas. La presencia de bacterias resistentes a cefalosporinas de tercera generación en ciertos alimentos expendidos de forma ambulante podría ser el inicio de controles más estrictos en cuanto a la producción y manipulación de dichos alimentos. Dado que la resistencia bacteriana no es un fenómeno erradicable, el deber que tienen los seres humanos afines a las áreas de salud es ubicar los focos de transmisión, encontrar estrategias de prevención primaria (disminuyendo y racionalizando la prescripción de antibióticos). Encontrar herramientas accesibles y sensibles para determinar fácilmente los pacientes portadores y agudamente enfermos con estos patógenos, para administrar prontamente los medicamentos antibióticos útiles, maximizando así la sobrevida (para prevención secundaria). Realizar e implementar leyes que penen el expendio libre de moléculas antibióticas sin prescripción médica, realizar protocolos asimilables de atención y tratamiento de enfermedades infecciosas determinando clara y categóricamente cuando es necesario el uso de antibióticos. La tasa de aparición de bacterias portadoras de genes de resistencia es más rápido que su tasa de desaparición natural. Está demostrado que la reducción del uso de antibióticos a nivel individual está asociado a una disminución local de antibioticoresistencia, por lo que los médicos están llamados a realizar diagnósticos certeros y nunca dar sustancias antibióticas en caso de no ser visiblemente necesario y también un llamado a las autoridades para prohibir el expendio libre de fármacos antibióticos con lo cual la morbilidad, mortalidad y la carga económica que las consecuencias de esto determina bajarán considerablemente.

Hacer lo posible por determinar la cantidad de resistencia a antibióticos que es capaz de atravesar la cadena alimenticia y causar la existencia de sujetos portadores sanos. Esto supone una tarea compleja debido a que usualmente existe un retraso significativo entre la exposición a la comida y manifestaciones infecciosas, o incluso podrían nunca existir. El señalar retrospectivamente el vínculo causal de transmisión de resistencia bacteriana a través de alimentos es una tarea infructífera desde el punto de vista clínico. Por lo que la

prevención mediante el establecimiento de focos de diseminación actual, es una tarea que debe ser profundizada y difundida, uno de ellos es la comida de venta ambulante.

Los análisis posteriores que serían de interés epidemiológico constituyen el análisis de especímenes conformados por hisopado rectal, orina y sangre en la población críticamente enferma con bacterias multirresistentes en los hospitales cercanos a los lugares donde se realizó este análisis en busca de plásmidos que sean compatibles con lo hallado en los alimentos y de esa forma establecer una relación causal entre el consumo o contacto con dichos productos presentes en la cadena alimenticia. De igual forma, encontrar la proporción de seres humanos colonizados con *Escherichia coli* productora de BLEE mediante hisopado rectal y sus hábitos alimenticios, tratando de establecer igualmente la relación que existe entre la presencia de bacterias multirresistentes en alimentos, su consumo y la existencia de portadores asintomáticos de las bacterias.

Las autoridades de salud podrían enfocar esfuerzos en torno a la propuesta de que un objetivo de salud pública sea la disminución de seres humanos portadores intestinales de bacterias resistentes, así como lo es tener cifras tensionales arteriales aceptables, niveles de colesterol sérico bajos (Capita & Alonso-Calleja, 2013).

BIBLIOGRAFÍA

- Adler, A., Katz, D. E., & Marchaim, D. (2016). The Continuing Plague of Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, 30(2), 347–75. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2016.02.003>
- Alanis, A. J. (2005). Resistance to Antibiotics: Are We in the Post-Antibiotic Era? *Archives of Medical Research*, 36(6), 697–705. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2005.06.009>
- Aminov, R. I., & Mackie, R. I. (2007). Evolution and ecology of antibiotic resistance genes. *FEMS Microbiology Letters*, 271(2), 147–161. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00757.x>
- Amos, G. C. A., Zhang, L., Hawkey, P. M., Gaze, W. H., & Wellington, E. M. (2014). Functional metagenomic analysis reveals rivers are a reservoir for diverse antibiotic resistance genes. *Veterinary Microbiology*, 171(3), 441–447. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.02.017>
- Antony, S. J., Parikh, M. S., Soto, E., Cameron, C., & Mody, R. (2016). Extended-Spectrum Beta-Lactamase Infections in Orthopedic-Related Devices and Prosthetic Joints. *Orthopedics*, 39(4), e668–e673. <https://doi.org/10.3928/01477447-20160606-07>
- Ardiles-Villegas, K., González-Acuña, D., Waldenström, J., Olsen, B., & Hernández, J. (2011). Antibiotic Resistance Patterns in Fecal Bacteria Isolated from Christmas Shearwater (*Puffinus nativitatis*) and Masked Booby (*Sula dactylatra*) at Remote Easter Island. *Avian Diseases*, 55(3), 486–489. <https://doi.org/10.1637/9619-122010-ResNote.1>
- Asir, J., Nair, S., Devi, S., Prashanth, K., Saranathan, R., & Kanungo, R. (2015). Simultaneous gut colonisation and infection by ESBL-producing *Escherichia coli* in

- hospitalised patients. *The Australasian Medical Journal*, 8(6), 200–7.
<https://doi.org/10.4066/AMJ.2015.2358>
- Bajaj, P., Singh, N. S., & Viridi, J. S. (2016). Escherichia coli β -Lactamases: What Really Matters. *Frontiers in Microbiology*, 7, 417. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00417>
- Bartram, J., & Pedley, S. (1996). Water Quality Monitoring- A Practical Guide to the Design and Implementation of Freshwater Quality Studies and Monitoring Programmes. *United Nations Environment Programme; World Health Organization*, 1–27. <https://doi.org/10.1002/ejoc.201200111>
- Bauernfeind, A., Grimm, H., & Schweighart, S. (1990). A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of Escherichia coli. *Infection*, 18(5), 294–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2276823>
- Bavishi, C., & DuPont, H. L. (2011). Systematic review: the use of proton pump inhibitors and increased susceptibility to enteric infection. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 34(11–12), 1269–1281. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2036.2011.04874.x>
- Bayona, M. M. A. (2009). Evaluación Microbiológica de Alimentos Adquiridos en la Vía Pública en un sector del Norte de Bogotá. *Revista de La Universidad de Ciencias Aplicadas Y Ambientales Actualidad & Divulgación Científica*, 12(2), 9–17.
- Ben- Ami, R., Rodríguez- Baño, J., Arslan, H., Pitout, J. D. D., Quentin, C., Calbo, E. S., ... Carmeli, Y. (2009). A Multinational Survey of Risk Factors for Infection with Extended- Spectrum β - Lactamase–Producing Enterobacteriaceae in Nonhospitalized Patients. *Clinical Infectious Diseases*, 49(5), 682–690.
<https://doi.org/10.1086/604713>
- Berglund, B. (2015). Environmental dissemination of antibiotic resistance genes and

- correlation to anthropogenic contamination with antibiotics. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5, 28564. <https://doi.org/10.3402/iee.v5.28564>
- Bhoomika, Shakya, S., Patyal, A., & Gade, N. E. (2016). Occurrence and characteristics of extended-spectrum β -lactamases producing *Escherichia coli* in foods of animal origin and human clinical samples in Chhattisgarh, India. *Veterinary World*, 9(9), 996–1000. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2016.996-1000>
- Bhutani, N., Muraleedharan, C., Talreja, D., Rana, S. W., Walia, S., Kumar, A., & Walia, S. K. (2015). Occurrence of Multidrug Resistant Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing Bacteria on Iceberg Lettuce Retailed for Human Consumption. *BioMed Research International*, 2015, 547547. <https://doi.org/10.1155/2015/547547>
- bioMérieux. (2016). VITEK 2 AST Cards - clinical diagnostics products. Retrieved April 18, 2017, from <http://www.biomerieux-diagnostics.com/vitek-2-ast-cards>
- Blanco, V. M., Maya, J. J., Correa, A., Perenguez, M., Muñoz, J. S., Motoa, G., ... Villegas, M. V. (2016). Prevalence and risk factors for extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* causing community-onset urinary tract infections in Colombia. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 34(9), 559–565. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.11.017>
- Blane, B., Brodrick, H. J., Gouliouris, T., Ambridge, K. E., Kidney, A. D., Ludden, C. M., ... Peacock, S. J. (2016). Comparison of 2 chromogenic media for the detection of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae stool carriage in nursing home residents. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 84(3), 181–3. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.008>
- Blodgett, R. (2010). Most Probable Number from Serial Dilutions. Retrieved April 17, 2017, from <https://www.fda.gov/food/foodscienceresearch/laboratorymethods/ucm109656.htm>

- Bonnedahl, J., Hernandez, J., Stedt, J., Waldenström, J., Olsen, B., & Drobni, M. (2014). Extended-spectrum β -lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Gulls, Alaska, USA. *Emerging Infectious Diseases*, 20(5), 897–9.
<https://doi.org/10.3201/eid2005.130325>
- Bound, J. P., Kitsou, K., Voulvoulis, N., Saleem, F., Yang, W.-C., Chang, Y.-C., ... Nettesheim, T. (2017). Household disposal of pharmaceuticals and perception of risk to the environment. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3), 301–307.
<https://doi.org/10.1016/j.etap.2005.09.006>
- Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(4), 933–51, table of contents.
<https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>
- Britania Lab. (2014). Verde Brillante Bilis 2% Caldo. Retrieved April 17, 2017, from <http://www.britanialab.com.ar/esp/productos/b02/verdebribilis.htm>
- Broeren, M. A. C., Maas, Y., Retera, E., & Arents, N. L. A. (2013). Antimicrobial susceptibility testing in 90 min by bacterial cell count monitoring. *Clinical Microbiology and Infection : The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 19(3), 286–91. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03800.x>
- Brolund, A. (2014). Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infection Ecology & Epidemiology*, 4.
<https://doi.org/10.3402/iee.v4.24555>
- Brolund, A., & Sandegren, L. (2016). Characterization of ESBL disseminating plasmids. *Infectious Diseases (London, England)*, 48(1), 18–25.
<https://doi.org/10.3109/23744235.2015.1062536>

- Buehlmann, M., Bruderer, T., Frei, R., & Widmer, A. F. (2011). Effectiveness of a new decolonisation regimen for eradication of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Hospital Infection*, 77(2), 113–117.
<https://doi.org/10.1016/j.jhin.2010.09.022>
- Burt, B. M., Volel, C., & Finkel, M. (2003). Safety of vendor-prepared foods: evaluation of 10 processing mobile food vendors in Manhattan. *Public Health Reports*, 118(October), 470–476. <https://doi.org/10.1093/phr/118.5.470>
- Bush, K. (2010). Bench-to-bedside review: The role of beta-lactamases in antibiotic-resistant Gram-negative infections. *Critical Care (London, England)*, 14(3), 224.
<https://doi.org/10.1186/cc8892>
- Butler, C. C., Dunstan, F., Heginbotham, M., Mason, B., Roberts, Z., Hillier, S., ... Howard, A. (2007). Containing antibiotic resistance: decreased antibiotic-resistant coliform urinary tract infections with reduction in antibiotic prescribing by general practices. *The British Journal of General Practice : The Journal of the Royal College of General Practitioners*, 57(543), 785–92. Retrieved from
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17925135>
- Calbo, E., Freixas, N., Xercavins, M., Riera, M., Nicolas, C., Monistrol, O., ... Garau, J. (2011). Foodborne Nosocomial Outbreak of SHV1 and CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae*: Epidemiology and Control. *Clinical Infectious Diseases*, 52(6), 743–749. <https://doi.org/10.1093/cid/ciq238>
- Campos, J., Gil, J., Mourão, J., Peixe, L., & Antunes, P. (2015). Ready-to-eat street-vended food as a potential vehicle of bacterial pathogens and antimicrobial resistance: An exploratory study in Porto region, Portugal. *International Journal of Food Microbiology*, 206, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.016>
- Cantón, R., González-Alba, J. M., & Galán, J. C. (2012). CTX-M Enzymes: Origin and

- Diffusion. *Frontiers in Microbiology*, 3, 110. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2012.00110>
- Capita, R., & Alonso-Calleja, C. (2013). Antibiotic-Resistant Bacteria: A Challenge for the Food Industry. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(1), 11–48. <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.519837>
- Cardoso, R. de C. V., Companion, M., & Marras, S. (2014). *Street food : culture, economy, health and governance*.
- Carneiro, C., Araújo, C., Gonçalves, A., Vinué, L., Somalo, S., Ruiz, E., ... Torres, C. (2010). Detection of CTX-M-14 and TEM-52 extended-spectrum beta-lactamases in fecal *Escherichia coli* isolates of captive ostrich in Portugal. *Foodborne Pathogens and Disease*, 7(8), 991–4. <https://doi.org/10.1089/fpd.2009.0494>
- Centers for Disease Control and Prevention. (2017). Antibiotic/Antimicrobial Resistance. Retrieved April 11, 2017, from <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html>
- CHROMagar. (2016). CHROMagar ESBL for overnight detection of Gram-negative bacteria producing Extended Spectrum Beta-Lactamase. Retrieved April 18, 2017, from http://www.chromagar.com/fichiers/1470666387LF_EXT_019_ES_V5.0_Website.pdf?PHPSESSID=1996950be85828b712993e0d19808670
- CLSL. (2014). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fourth Informational Supplement. Wayne, PA.: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Consejo de Educación Superior. (2013). Instituciones de Educación Superior. Retrieved from http://www.ces.gob.ec/index.php?option=com_content&view=archive&Itemid=129
- Cooper, G. M. (2000). The Origin and Evolution of Cells. Retrieved from

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK9841/>

D'Costa, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W. L., Schwarz, C., ... Wright, G. D. (2011). Antibiotic resistance is ancient. *Nature*, 477(7365), 457–461.

<https://doi.org/10.1038/nature10388>

Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance.

Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR, 74(3), 417–33.

<https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10>

DeBusscher, J., Zhang, L., Buxton, M., Foxman, B., & Barbosa-Cesnik, C. (2009).

Persistent extended-spectrum beta-lactamase urinary tract infection. *Emerging Infectious Diseases*, 15(11), 1862–4. <https://doi.org/10.3201/eid1511.081501>

Djuikoue, I. C., Woerther, P.-L., Toukam, M., Burdet, C., Ruppé, E., Gonsu, K. H., ...

Ngogang, J. (2016). Intestinal carriage of Extended Spectrum Beta-Lactamase producing *E. coli* in women with urinary tract infections, Cameroon. *Journal of Infection in Developing Countries*, 10(10), 1135–1139. Retrieved from

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27801378>

Doyle, M. E. (2015). Multidrug-Resistant Pathogens in the Food Supply. *Foodborne*

Pathogens and Disease, 12(4), 261–279. <https://doi.org/10.1089/fpd.2014.1865>

Egea, P., López-Cerero, L., Navarro, M. D., Rodríguez-Baño, J., & Pascual, A. (2011).

Assessment of the presence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in eggshells and ready-to-eat products. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases : Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 30(9), 1045–7. <https://doi.org/10.1007/s10096-011-1168-3>

Ena, J., Arjona, F., Martínez-Peinado, C., del mar López-Perezagua, M., & Amador, C.

(2006). Epidemiology of urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-

lactamase-producing *Escherichia coli*. *Urology*, 68(6), 1169–1174.

<https://doi.org/10.1016/j.urology.2006.08.1075>

European Commission. (2008). The Rapid Alert System for Food and Feed - Annual Report 2008. Luxemburgo: European Communities, 2009. Retrieved from https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/rasff_annual_report_2008_en.pdf

Ferens, W. A., & Hovde, C. J. (2011). *Escherichia coli* O157:H7: animal reservoir and sources of human infection. *Foodborne Pathogens and Disease*, 8(4), 465–87.

<https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0673>

Finley, R. L., Collignon, P., Larsson, D. G. J., McEwen, S. A., Li, X.-Z., Gaze, W. H., ... Topp, E. (2013). The Scourge of Antibiotic Resistance: The Important Role of the Environment. *Clinical Infectious Diseases*, 57(5), 704–710.

<https://doi.org/10.1093/cid/cit355>

Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2011). Ensuring quality and safety of street foods. Retrieved February 23, 2017, from

<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/011/ak003e/ak003e09.pdf>

Forsberg, K. J., Reyes, A., Wang, B., Selleck, E. M., Sommer, M. O. A., & Dantas, G. (2012). The Shared Antibiotic Resistome of Soil Bacteria and Human Pathogens.

Science, 337(6098), 1107–1111. <https://doi.org/10.1126/science.1220761>

Gazin, M., Paasch, F., Goossens, H., Malhotra-Kumar, S., & MOSAR WP2 and SATURN WP1 Study Teams. (2012). Current trends in culture-based and molecular detection of extended-spectrum- β -lactamase-harboring and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4), 1140–6.

<https://doi.org/10.1128/JCM.06852-11>

- Ghafourian, S., Sadeghifard, N., Soheili, S., & Sekawi, Z. (2015). Extended Spectrum Beta-lactamases: Definition, Classification and Epidemiology. *Current Issues in Molecular Biology*, 17, 11–21. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24821872>
- Graham, J. P., Price, L. B., Evans, S. L., Graczyk, T. K., & Silbergeld, E. K. (2009). Antibiotic resistant enterococci and staphylococci isolated from flies collected near confined poultry feeding operations. *Science of The Total Environment*, 407(8), 2701–2710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2008.11.056>
- Guenther, S., Ewers, C., & Wieler, L. H. (2011). Extended-Spectrum Beta-Lactamases Producing E. coli in Wildlife, yet Another Form of Environmental Pollution? *Frontiers in Microbiology*, 2, 246. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00246>
- Hara-Kudo, Y., & Takatori, K. (2011). Contamination level and ingestion dose of foodborne pathogens associated with infections. *Epidemiology and Infection*, 139(10), 1505–1510. <https://doi.org/10.1017/S095026881000292X>
- Harris, A. D., McGregor, J. C., Johnson, J. A., Strauss, S. M., Moore, A. C., Standiford, H. C., ... Morris, J. G. (2007). Risk Factors for Colonization with Extended-Spectrum β -Lactamase-producing Bacteria and Intensive Care Unit Admission. *Emerging Infectious Diseases*, 13(8), 1144–1149. <https://doi.org/10.3201/eid1308.070071>
- Hassing, R.-J., Verbon, A., de Visser, H., Hofman, A., & Stricker, B. H. (2016). Proton pump inhibitors and gastroenteritis. *European Journal of Epidemiology*, 31(10), 1057–1063. <https://doi.org/10.1007/s10654-016-0136-8>
- Hawkey, P. M., & Jones, A. M. (2009). The changing epidemiology of resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 64(Supplement 1), i3–i10. <https://doi.org/10.1093/jac/dkp256>

- Hernández, J., Stedt, J., Bonnedahl, J., Molin, Y., Drobni, M., Calisto-Ulloa, N., ... Olsen, B. (2012). Human-associated extended-spectrum β -lactamase in the Antarctic. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(6), 2056–8. <https://doi.org/10.1128/AEM.07320-11>
- Heuer, H., Schmitt, H., & Smalla, K. (2011). Antibiotic resistance gene spread due to manure application on agricultural fields. *Current Opinion in Microbiology*, 14(3), 236–243. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.04.009>
- Høiby, N., Pers, C., Johansen, H. K., Hansen, H., & The Copenhagen Study Group on Antibiotics in Sweat. (2000). Excretion of beta-lactam antibiotics in sweat--a neglected mechanism for development of antibiotic resistance? *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(10), 2855–7. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10991872>
- Hui, C.-K. (2014). Recurrent extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* urinary tract infection due to an infected intrauterine device. *Singapore Medical Journal*, 55(2), e28-30. <https://doi.org/10.11622/smedj.2013213>
- INEC. (2010). Fascículo provincial Pichincha. Censo 2010. Retrieved from <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Manu-lateral/Resultados-provinciales/pichincha.pdf>
- INEC. (2012). Anuario de Estadísticas Hospitalarias Camas y Egresos 2012. Retrieved from http://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_Sociales/Camas_Egresos_Hospitalarios/Publicaciones-Cam_Egre_Host/Anuario_Camas_Egresos_Hospitalarios_2012.pdf
- Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN. (2013). Mercados Saludables. Requisitos. In *NTE INEN 2687:2013* (Vol. 1).

- Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social - Hospital Carlos Andrade Marín. (2014). Plan Médico Funcional 2014. Retrieved from <https://www.iess.gob.ec/documents/10162/3321613/PMF+HCAM.pdf>
- Jácome, E. (2017, February 8). En el 2017 se analizarán 8 000 muestras de comidas que se venden en la calle. *El Comercio*. Quito. Retrieved from <http://www.elcomercio.com/tendencias/muestras-analisis-secretariadesalud-comida-calle.html>
- Jasper, R. T., Coyle, J. R., Katz, D. E., & Marchaim, D. (2015). The complex epidemiology of extended- spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Future Microbiology*, 10, 819–839. <https://doi.org/10.2217/fmb.15.16>
- Kałużna, E., Wiecek, P. Z., & Gospodarek, E. (2014). Comparison of detection methods for in Escherichia coli strains. Retrieved April 18, 2017, from <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1108873>
- Kapadia, M., Rolston, K. V. I., & Han, X. Y. (2007). Invasive Streptomyces Infections. *American Journal of Clinical Pathology*, 127(4), 619–624. <https://doi.org/10.1309/QJEBXP0BCGR54L15>
- Kempf, I., & Zeitouni, S. (2012). Coût biologique de la résistance aux antibiotiques : analyse et conséquences. *Pathologie Biologie*, 60(2), e9–e14. <https://doi.org/10.1016/j.patbio.2009.10.013>
- Kim, H.-S., Chon, J.-W., Kim, Y.-J., Kim, D.-H., Kim, M., & Seo, K.-H. (2015). Prevalence and characterization of extended-spectrum- β -lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae in ready-to-eat vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 207, 83–6. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.04.049>
- Kollef, M. H. (2009). New antimicrobial agents for methicillin-resistant Staphylococcus

- aureus. *Critical Care and Resuscitation : Journal of the Australasian Academy of Critical Care Medicine*, 11(4), 282–6. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20001879>
- Kollef, M. H., Sherman, G., Ward, S., & Fraser, V. J. (1999). Inadequate Antimicrobial Treatment of Infections: A Risk Factor for Hospital Mortality Among Critically Ill Patients. *Chest*, 115(2), 462–474. <https://doi.org/10.1378/chest.115.2.462>
- Kools, S. A. E., Moltmann, J. F., & Knacker, T. (2008). Estimating the use of veterinary medicines in the European union. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 50(1), 59–65. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2007.06.003>
- Kudva, I. T., Blanch, K., & Hovde, C. J. (1998). Analysis of Escherichia coli O157:H7 survival in ovine or bovine manure and manure slurry. *Applied and Environmental Microbiology*, 64(9), 3166–74. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9726855>
- Kümmerer, K., al-Ahmad, A., & Mersch-Sundermann, V. (2000). Biodegradability of some antibiotics, elimination of the genotoxicity and affection of wastewater bacteria in a simple test. *Chemosphere*, 40(7), 701–10. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10705547>
- Lahlaoui, H., Ben Haj Khalifa, A., & Ben Moussa, M. (2014). Epidemiology of Enterobacteriaceae producing CTX-M type extended spectrum ??-lactamase (ESBL). *Medecine et Maladies Infectieuses*, 44(9), 400–404. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.03.010>
- Leclercq, R., Cantón, R., Brown, D. F. J., Giske, C. G., Heisig, P., MacGowan, A. P., ... Kahlmeter, G. (2013). EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(2), 141–160. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>

- Lee, D. S., Lee, C. B., & Lee, S.-J. (2010). Prevalence and risk factors for extended spectrum Beta-lactamase-producing uropathogens in patients with urinary tract infection. *Korean Journal of Urology*, 51(7), 492–7.
<https://doi.org/10.4111/kju.2010.51.7.492>
- Leverstein-van Hall, M. A., Dierikx, C. M., Stuart, J. C., Voets, G. M., van den Munckhof, M. P., van Essen-Zandbergen, A., ... National ESBL surveillance group. (2011). Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clinical Microbiology and Infection*, 17(6), 873–880.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03497.x>
- Liu, Y.-Y., Wang, Y., Walsh, T. R., Yi, L.-X., Zhang, R., Spencer, J., ... Shen, J. (2016). Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *The Lancet Infectious Diseases*, 16(2), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(15\)00424-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(15)00424-7)
- Lucan, S. C., Maroko, A. R., Bumol, J., Varona, M., Torrens, L., & Schechter, C. B. (2014). Mobile food vendors in urban neighborhoods-Implications for diet and diet-related health by weather and season. *Health and Place*, 27, 171–175.
<https://doi.org/10.1016/j.healthplace.2014.02.009>
- Lucan, S. C., Varona, M., Maroko, A. R., Bumol, J., Torrens, L., & Wylie-Rosett, J. (2013). Assessing mobile food vendors (a.k.a. street food vendors)-methods, challenges, and lessons learned for future food-environment research. *Public Health*, 127(8), 766–776. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2013.05.006>
- Maltby, R., Leatham-Jensen, M. P., Gibson, T., Cohen, P. S., & Conway, T. (2013). Nutritional Basis for Colonization Resistance by Human Commensal *Escherichia coli* Strains HS and Nissle 1917 against *E. coli* O157:H7 in the Mouse Intestine. *PLoS*

ONE, 8(1), e53957. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053957>

Marti, R., Muniesa, M., Schmid, M., Ahrens, C. H., Naskova, J., & Hummerjohann, J.

(2016). Short communication: Heat-resistant *Escherichia coli* as potential persistent reservoir of extended-spectrum β -lactamases and Shiga toxin-encoding phages in dairy. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 8622–8632. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11076>

Martínez-Pastor, J. C., Vilchez, F., Pitart, C., Sierra, J. M., & Soriano, A. (2010). Antibiotic resistance in orthopaedic surgery: acute knee prosthetic joint infections due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 29(8), 1039–1041. <https://doi.org/10.1007/s10096-010-0950-y>

Martínez, J. L., Coque, T. M., & Baquero, F. (2014). What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. *Nature Reviews Microbiology*, 13(2), 116–123. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3399>

Mazzola, P. G., Martins, A. M. S., & Penna, T. C. V. (2006). Chemical resistance of the gram-negative bacteria to different sanitizers in a water purification system. *BMC Infectious Diseases*, 6, 131. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-131>

Mercer, R. G., Zheng, J., Garcia-Hernandez, R., Ruan, L., Gänzle, M. G., & McMullen, L. M. (2015). Genetic determinants of heat resistance in *Escherichia coli*. *Frontiers in Microbiology*, 6, 932. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00932>

Ministerio Coordinador de Conocimiento y Talento Humano. (2012). Rector de la EPN presentó Informe de Gestión 2012. Retrieved from <http://www.conocimiento.gob.ec/rector-de-la-epn-presento-informe-de-gestion-2012/>

Ministerio de Salud Pública. (2015). Cartera de Servicios Hospitalarios. Retrieved from

<http://www.salud.gob.ec/datos-de-hospitales/>

- Modi, H. H., Modi, S. H., Siddiqui, B. R., & Andreoni, J. M. (2011). A Rare Case of Prosthetic Valve Endocarditis Caused by Extended-spectrum β -Lactamase Producing *Escherichia coli*. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3(1), 99–101. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.77310>
- Monib, M., Abd-el-Malek, Y., Hosny, I., & Fayez, M. (1979). Effect of *Azotobacter* inoculation on plant growth and soil nitrogen. *Zentralblatt Fur Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten Und Hygiene. Zweite Naturwissenschaftliche Abteilung: Mikrobiologie Der Landwirtschaft Der Technologie Und Des Umweltschutzes*, 134(2), 140–8. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/473965>
- Mook, P., McCormick, J., Bains, M., Cowley, L. A., Chattaway, M. A., Jenkins, C., ... Crook, P. (2016). ESBL-Producing and Macrolide-Resistant *Shigella sonnei* Infections among Men Who Have Sex with Men, England, 2015. *Emerging Infectious Diseases*, 22(11), 1948–1952. <https://doi.org/10.3201/eid2211.160653>
- Mulvey, M. R., & Simor, A. E. (2009). Antimicrobial resistance in hospitals: how concerned should we be? *CMAJ: Canadian Medical Association Journal = Journal de l'Association Medicale Canadienne*, 180(4), 408–15. <https://doi.org/10.1503/cmaj.080239>
- Muñoz Bellido, J. L., & González Buitrago, J. M. (2015). Espectrometría de masas MALDI-TOF en microbiología clínica. Situación actual y perspectivas futuras. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 33(6), 369–371. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2015.02.016>
- Naseer, U., & Sundsfjord, A. (2011). The CTX-M Conundrum: Dissemination of Plasmids and *Escherichia coli* Clones. *Microbial Drug Resistance*, 17(1), 83–97.

<https://doi.org/10.1089/mdr.2010.0132>

Nihorimbere, V., Ongena, M., Smargiassi, M., & Thonart, P. (2011). Beneficial effect of the rhizosphere microbial community for plant growth and health.

<http://popups.ulg.ac.be/1780-4507>. Retrieved from <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=7578#tocto1n1>

Norwood, D. E., & Gilmour, A. (2000). The growth and resistance to sodium hypochlorite of *Listeria monocytogenes* in a steady-state multispecies biofilm. *Journal of Applied Microbiology*, 88(3), 512–20. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10747232>

Nüesch-Inderbinen, M., Zurfluh, K., Peterhans, S., Hächler, H., & Stephan, R. (2015). Assessment of the Prevalence of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Ready-to-Eat Salads, Fresh-Cut Fruit, and Sprouts from the Swiss Market. *Journal of Food Protection*, 78(6), 1178–81. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-15-018>

Okeke, I. N., & Edelman, R. (2001). Dissemination of antibiotic-resistant bacteria across geographic borders. *Clinical Infectious Diseases : An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 33(3), 364–369. <https://doi.org/10.1086/321877>

Organización Internacional del Trabajo. (2008). Clasificación Internacional Uniforme de Ocupaciones Octava Edición.

Oteo, J., Pérez-Vázquez, M., & Campos, J. (2010). Extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli*: changing epidemiology and clinical impact. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 23(July 2008), 320–326. <https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283398dc1>

Pallecchi, L., Lucchetti, C., Bartoloni, A., Bartalesi, F., Mantella, A., Gamboa, H., ...

Rossolini, G. M. (2007). Population Structure and Resistance Genes in Antibiotic-Resistant Bacteria from a Remote Community with Minimal Antibiotic Exposure.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 51(4), 1179–1184.

<https://doi.org/10.1128/AAC.01101-06>

Petković, H., Cullum, J., Hranueli, D., Hunter, I. S., Perić-Concha, N., Pigac, J., ... Long,

P. F. (2006). Genetics of *Streptomyces rimosus*, the oxytetracycline producer.

Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR, 70(3), 704–28.

<https://doi.org/10.1128/MMBR.00004-06>

Pitout, J. D. D. (2010). Infections with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing

Enterobacteriaceae. *Drugs*, 70(3), 313–333. <https://doi.org/10.2165/11533040-000000000-00000>

Platteel, T. N., Leverstein-van Hall, M. A., Cohen Stuart, J. W., Thijsen, S. F. T., Mascini,

E. M., van Hees, B. C., ... Bonten, M. J. M. (2015). Predicting carriage with extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria at hospital admission: a cross-sectional study. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(2), 141–146.

<https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.09.014>

Poulou, A., Grivakou, E., Vrioni, G., Koumaki, V., Pittaras, T., Pournaras, S., & Tsakris, A.

(2014). Modified CLSI extended-spectrum β -lactamase (ESBL) confirmatory test for phenotypic detection of ESBLs among Enterobacteriaceae producing various β -lactamases. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(5), 1483–9.

<https://doi.org/10.1128/JCM.03361-13>

Proietti, I., Frazzoli, C., & Mantovani, A. (2014). Identification and management of

toxicological hazards of street foods in developing countries. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.10.047>

- Pujol, L. (2012). Receta del ceviche de chochos. Retrieved April 8, 2017, from <https://www.laylita.com/recetas/2012/06/03/ceviche-vegetariano-de-chochos/>
- Pullen, L., & Barclay, L. (2017). Antibiotic Resistance Linked to Clorhexidine.
- Randall, L. P., Lodge, M. ., Elviss, N. C., Lemma, F. L., Hopkins, K. L., Teale, C. J., & Woodford, N. (2017). Evaluation of meat, fruit and vegetables from retail stores in five United Kingdom regions as sources of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing and carbapenem-resistant *Escherichia coli*. *International Journal of Food Microbiology*, 241, 283–290. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.10.036>
- Rane, S. (2011a). Street Vended Food in Developing World: Hazard Analyses. *Indian J Microbiol*, 51(1), 100–106. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0154-x>
- Rane, S. (2011b). Street vended food in developing world: hazard analyses. *Indian Journal of Microbiology*, 51(1), 100–6. <https://doi.org/10.1007/s12088-011-0154-x>
- Rapido, I. (2016, April 29). Chaguarmishqui tiene su truco. *El Comercio*. Quito. Retrieved from <http://www.ultimasnoticias.ec/noticias/31604-chaguarmishqui-dulce-tradicion-sierra.html>
- Rasheed, M. U., Thajuddin, N., Ahamed, P., Teklemariam, Z., & Jamil, K. (2014). Antimicrobial drug resistance in strains of *Escherichia coli* isolated from food sources. *Revista Do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo*, 56(4), 341–6. <https://doi.org/10.1590/s0036-46652014000400012>
- Rawat, D., & Nair, D. (2010). Extended-spectrum β -lactamases in gram negative bacteria. *Journal of Global Infectious Diseases*, 2(3), 263. <https://doi.org/10.4103/0974-777X.68531>
- Reardon, S. (2015). Spread of antibiotic-resistance gene does not spell bacterial

apocalypse — yet. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/nature.2015.19037>

Reinheimer, C., Keppler, O. T., Stephan, C., Wichelhaus, T. A., Friedrichs, I., & Kempf, V. A. J. (2017). Elevated prevalence of multidrug-resistant gram-negative organisms in HIV positive men. *BMC Infectious Diseases*, 17(1), 206. <https://doi.org/10.1186/s12879-017-2286-z>

Reuland, E. A., al Naiemi, N., Raadsen, S. A., Savelkoul, P. H. M., Kluytmans, J. A. J. W., & Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. (2014). Prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in raw vegetables. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 33(10), 1843–1846. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2142-7>

Roca, I., Akova, M., Baquero, F., Carlet, J., Cavaleri, M., Coenen, S., ... Vila, J. (2015). The global threat of antimicrobial resistance: science for intervention. *New Microbes and New Infections*, 6, 22–9. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2015.02.007>

Rocha-Gracia, R. C., Cortés-Cortés, G., Lozano-Zarain, P., Bello, F., Martínez-Laguna, Y., & Torres, C. (2015). Faecal Escherichia coli isolates from healthy dogs harbour CTX-M-15 and CMY-2 β -lactamases. *Veterinary Journal (London, England : 1997)*, 203(3), 315–9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.12.026>

Rodriguez-Bano, J., Lopez-Cerero, L., Navarro, M. D., de Alba, P. D., & Pascual, A. (2008). Faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Escherichia coli: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 62(5), 1142–1149. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn293>

Rosenblatt-Farrell, N. (2009). The landscape of antibiotic resistance. *Environmental Health Perspectives*, 117(6), A244-50. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19590668>

Rubinstein, C. V., Gerrienne, P., de la Puente, G. S., Astini, R. A., & Steemans, P. (2010).

- Early Middle Ordovician evidence for land plants in Argentina (eastern Gondwana). *New Phytologist*, 188(2), 365–369. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2010.03433.x>
- Rupp, M. E., & Fey, P. D. (2003). Extended Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Producing Enterobacteriaceae: Considerations for Diagnosis, Prevention and Drug Treatment. *Drugs*, 63(4), 353–365. <https://doi.org/10.2165/00003495-200363040-00002>
- Ruppé, E., Woerther, P.-L., Diop, A., Sene, A.-M., Da Costa, A., Arlet, G., ... Rouveix, B. (2009). Carriage of CTX-M-15-producing Escherichia coli isolates among children living in a remote village in Senegal. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(7), 3135–7. <https://doi.org/10.1128/AAC.00139-09>
- Sakellariou, C., Gürntke, S., Steinmetz, I., Kohler, C., Pfeifer, Y., Gastmeier, P., ... Leistner, R. (2016). Sepsis Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL)-Positive K. pneumoniae and E. coli: Comparison of Severity of Sepsis, Delay of Anti-Infective Therapy and ESBL Genotype. *PloS One*, 11(7), e0158039. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158039>
- Sarria, J. C., Vidal, A. M., & Kimbrough III, R. C. (2001). Infections Caused by Kluyvera Species in Humans. *Clinical Infectious Diseases*, 33(7), e69–e74. <https://doi.org/10.1086/322686>
- Seehusen, D. A., & Edwards, J. (2006). Patient practices and beliefs concerning disposal of medications. *Journal of the American Board of Family Medicine : JABFM*, 19(6), 542–7. <https://doi.org/10.3122/JABFM.19.6.542>
- Shrivastava, R., Upreti, R. K., Jain, S. R., Prasad, K. N., Seth, P. K., & Chaturvedi, U. C. (2004). Suboptimal chlorine treatment of drinking water leads to selection of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 58(2), 277–283. [https://doi.org/10.1016/S0147-6513\(03\)00107-6](https://doi.org/10.1016/S0147-6513(03)00107-6)

- Sjölund, M., Bonnedahl, J., Hernandez, J., Bengtsson, S., Cederbrant, G., Pinhassi, J., ... Olsen, B. (2008). Dissemination of multidrug-resistant bacteria into the Arctic. *Emerging Infectious Diseases*, 14(1), 70–2. <https://doi.org/10.3201/eid1401.070704>
- Slama, K. Ben, Jouini, A., Sallem, R. Ben, Somalo, S., Sáenz, Y., Estepa, V., ... Torres, C. (2010). Prevalence of broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* isolates in food samples in Tunisia, and characterization of integrons and antimicrobial resistance mechanisms implicated. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2–3), 281–286. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.12.003>
- Solo-Gabriele, H. M., Wolfert, M. A., Desmarais, T. R., & Palmer, C. J. (2000). Sources of *Escherichia coli* in a Coastal Subtropical Environment. *APPLIED AND ENVIRONMENTAL MICROBIOLOGY*, 66(1), 230–237.
- Solomon, E. B., Yaron, S., & Matthews, K. R. (2002). Transmission of *Escherichia coli* O157:H7 from contaminated manure and irrigation water to lettuce plant tissue and its subsequent internalization. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(1), 397–400. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.1.397-400.2002>
- Sørum, H. (2006). Antimicrobial Drug Resistance in Fish Pathogens, 213–238. <https://doi.org/10.1128/9781555817534.CH13>
- Tadesse, D. A., Zhao, S., Tong, E., Ayers, S., Singh, A., Bartholomew, M. J., & McDermott, P. F. (2012). Antimicrobial drug resistance in *Escherichia coli* from humans and food animals, United States, 1950-2002. *Emerging Infectious Diseases*, 18(5), 741–9. <https://doi.org/10.3201/eid1805.111153>
- Tängdén, T., Cars, O., Melhus, A., & Löwdin, E. (2010). Foreign travel is a major risk factor for colonization with *Escherichia coli* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases: a prospective study with Swedish volunteers. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54(9), 3564–8.

<https://doi.org/10.1128/AAC.00220-10>

Tekiner, İ. H., & Özpınar, H. (2016). Occurrence and characteristics of extended spectrum beta-lactamases-producing Enterobacteriaceae from foods of animal origin. *Brazilian Journal of Microbiology : [Publication of the Brazilian Society for Microbiology]*, 47(2), 444–51. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.034>

Tham, J., Odenholt, I., Walder, M., Andersson, L., & Melander, E. (2013). Risk factors for infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a county of Southern Sweden. *Infection and Drug Resistance*, 6, 93–7. <https://doi.org/10.2147/IDR.S46290>

Tham, J., Walder, M., Melander, E., & Odenholt, I. (2012). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in food. *Infection and Drug Resistance*, 5(1), 143–147. <https://doi.org/10.2147/IDR.S34941>

The Nobel Foundation. (2002). Koichi Tanaka - Biographical. Retrieved April 18, 2017, from https://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/2002/tanaka-bio.html

Tian, S. F., Chen, B. Y., Chu, Y. Z., & Wang, S. (2008). Prevalence of rectal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* among elderly people in community settings in China. *Canadian Journal of Microbiology*, 54(9), 781–785. <https://doi.org/10.1139/W08-059>

Tschudin-sutter, A. S., Frei, R., Dvm, R. S., Nogarth, D., Widmer, A. F., Tschudin-sutter, S., ... Widmer, A. F. (2016). Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL) – Producing Enterobacteriaceae : A Threat from the Kitchen Published by : Cambridge University Press on behalf of The Society for Healthcare Epidemiology of America Stable URL : <http://www.jstor.org/stable/10.1086/675>, 35(5), 581–584.

- Turner, J. G., Ellis, C., & Devoto, A. (2002). The jasmonate signal pathway. *The Plant Cell*, 14 Suppl(Suppl), S153-64. <https://doi.org/10.1105/tpc.000679>
- United Nations. (1948). Universal Declaration of Human Rights - General Assembly Resolution 217A. Paris: United Nations. Retrieved from <http://www.un.org/en/universal-declaration-human-rights/index.html>
- van den Bogaard, A. E., & Stobberingh, E. E. (2000). Epidemiology of resistance to antibiotics. Links between animals and humans. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), 327–35. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10794955>
- van Hoek, A. H. A. M., Veenman, C., van Overbeek, W. M., Lynch, G., de Roda Husman, A. M., & Blaak, H. (2015). Prevalence and characterization of ESBL- and AmpC-producing Enterobacteriaceae on retail vegetables. *International Journal of Food Microbiology*, 204, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.014>
- van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., & Pieterse, C. M. J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 453–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453>
- Ventola, C. L. (2015). The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *P & T: A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 40(4), 277–83. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25859123>
- von Wintersdorff, C. J. H., Penders, J., van Niekerk, J. M., Mills, N. D., Majumder, S., van Alphen, L. B., ... Wolffs, P. F. G. (2016). Dissemination of Antimicrobial Resistance in Microbial Ecosystems through Horizontal Gene Transfer. *Frontiers in Microbiology*, 7, 173. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00173>
- Walsh, F., & Duffy, B. (2013). The Culturable Soil Antibiotic Resistome: A Community of

- Multi-Drug Resistant Bacteria. *PLoS ONE*, 8(6), e65567.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065567>
- Whitman, W. B., Coleman, D. C., & Wiebe, W. J. (1998). Perspective Prokaryotes: The unseen majority, 95, 6578–6583. Retrieved from
<http://www.pnas.org/content/95/12/6578.full.pdf>
- WHO. (2017). Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. *WHO*.
- Winker, K., McCracken, K. G., Gibson, D. D., Pruett, C. L., Meier, R., Huettmann, F., ... Swayne, D. E. (2007). Movements of birds and avian influenza from Asia into Alaska. *Emerging Infectious Diseases*, 13(4), 547–52.
<https://doi.org/10.3201/eid1304.061072>
- World Health Organization. (2001). Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Retrieved from
http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf
- Wright, K. M., Chapman, S., McGeachy, K., Humphris, S., Campbell, E., Toth, I. K., & Holden, N. J. (2013). The Endophytic Lifestyle of *Escherichia coli* O157:H7: Quantification and Internal Localization in Roots. *Phytopathology*, 103(4), 333–340.
<https://doi.org/10.1094/PHTO-08-12-0209-FI>
- Yazdankhah, S. P., Scheie, A. A., Høiby, E. A., Lunestad, B.-T., Heir, E., Fotland, T. Ø., ... Kruse, H. (2006). Triclosan and Antimicrobial Resistance in Bacteria: An Overview. *Microbial Drug Resistance*, 12(2), 83–90.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2006.12.83>
- Zeiler, F. A., & Silvaggio, J. (2015). ESBL *Escherichia coli* Ventriculitis after Aneurysm Clipping: A Rare and Difficult Therapeutic Challenge. *Case Reports in Neurological*

Medicine, 2015, 694807. <https://doi.org/10.1155/2015/694807>

ZengRan, L., GuangYi, Z., & XiangMei, Z. (2014). Urban street foods in Shijiazhuang city, China: current status, safety practices and risk mitigating strategies. *Food Control*, 41, 212–218.

Zurek, L., & Ghosh, A. (2014). Insects Represent a Link between Food Animal Farms and the Urban Environment for Antibiotic Resistance Traits. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(12), 3562–3567. <https://doi.org/10.1128/AEM.00600-14>

Zurfluh, K., Nüesch-Inderbinnen, M., Morach, M., Zihler Berner, A., Hächler, H., & Stephan, R. (2015). Extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolated from vegetables imported from the Dominican Republic, India, Thailand, and Vietnam. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(9), 3115–20. <https://doi.org/10.1128/AEM.00258-15>

Anexo 1. Para la adquisición de muestras.

Parte A: Requerimientos mínimos	<p>Dinero en efectivo de baja denominación.</p> <p>Vehículo.</p> <p>Hojas de chequeo en blanco (Anexo 2).</p> <p>Esferos de color negro, verde, rojo, azul y un lápiz.</p> <p>Marcador indeleble.</p> <p>Teléfono móvil con capacidad de determinar coordenadas de posicionamiento global mediante trilateración.</p> <p>Reloj y cámara (puede ser la del teléfono móvil).</p> <p>Fundas de doble cierre hermético de polietileno transparente, de 17,7 por 19,5 cm.</p> <p>Cooler.</p> <p>Contenedores de agua congelada para la preservación de alimentos a temperaturas inferiores a 8 °C.</p> <p>Toallitas desechables con etanol 70%, propan-1-ol 70 % o isopropanol 80 %.</p> <p>Pirómetro de infrarrojos.</p> <p>Bitácora (Cuaderno a cuadros de 100 hojas).</p>
Parte B	<p>Las muestras podrán ser recolectadas únicamente días sin lluvia (u algún otro tipo de precipitación) de lunes a viernes entre las 8h00 y las 17h00.</p> <p>Señalar un punto de eje.</p> <p>Colocarse una marca de cinta adhesiva a 20 centímetros en el pantalón en la pierna derecha.</p> <p>Acercarse al punto de eje escogido, comenzando por el más cercano al su límite sureste del área.</p> <p>En dicha intersección, observar en dirección sur, oeste, norte y este rastreando de forma visual ventas ambulantes.</p> <p>Iniciar comprando aquellos puntos ubicados hacia el sur, luego oeste, luego norte y luego este. Hasta saturar la compra del día o hasta superar el tiempo de compra permitido.</p> <p>Al identificar un punto de compra, verificar que el producto cumpla los requerimientos mínimos de inclusión:</p> <p>La venta debe darse en la vía pública exclusivamente.</p> <p>Se excluirán aquellos establecimientos que funcionen en propiedad privada.</p> <p>No haber sido producidos de forma industrial (Helados, caramelos, etc.)</p> <p>El alimento en cuestión no debe encontrarse en contacto con fuego.</p> <p>Una vez identificado el alimento, fotografiar el puesto de alimentos, evitando</p>

	<p>capturar el rostro identificable del vendedor o censurándolo, respetando el artículo 12 de la Declaración Universal de los Derechos Humanos (United Nations, 1948) y haciendo uso de las recomendaciones de acercamiento a los vendedores provistas por Lucan y colaboradores (Lucan et al., 2013, 2014). Observar cuidadosamente la indumentaria del vendedor, comparar la distancia de los productos con el suelo tomando en cuenta la marca de la pierna derecha, determinar la latitud y longitud con el teléfono móvil. Preguntar el costo de una porción de alimento y adquirirlo. Inmediatamente, acudir al vehículo y transferir la totalidad del alimento a una de las fundas de polietileno limpia, llenar la hoja de chequeo en función de lo observado y de la información provista en la fotografía, ingresar las coordenadas de la compra del alimento utilizando trilateración provista por el sistema de posicionamiento global del teléfono móvil. Rotular la funda de polietileno con la muestra correspondiente al número de asignación empleando el marcador indeleble. Después de cada compra, limpiar cuidadosamente las manos con las toallitas desechables. Insertar la muestra en el cooler, a partir de la primera compra, se tienen 3,5 horas para acopiar el resto de alimentos de la compra y un máximo de 16 horas para llegar al laboratorio. Asignar de forma aproximada un número equitativo de muestras para cada punto de eje, tomando en cuenta el máximo de muestras a recolectar por día. En caso de no encontrar muestras cercanas a un punto de eje, buscar en el punto inmediatamente más cercano en dispersión radial y en dirección noroeste.</p>
	<p>Una vez llegado al laboratorio, determinar la temperatura superficial del alimento más expuesto a la tapa del cooler y anotarlo en la bitácora.</p>
	<p>Proceder a realizar el análisis microbiológico, según el figura 3.</p>

Anexo 2. Hoja de chequeo y e información de cada muestra.

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATOLICA DEL ECUADOR FACULTAD DE MEDICINA TRABAJO DE TITULACIÓN

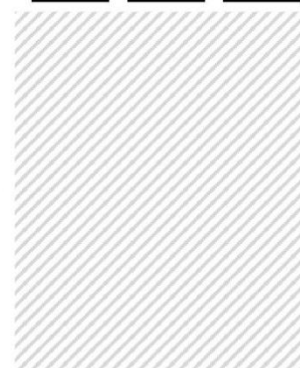
Caracterización fenotípica de *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de espectro extendido en alimentos expendidos de forma ambulante en sectores aledaños a cinco hospitales de tercer nivel y cinco centros de educación superior en la ciudad de Quito.

Objetivo General:

Determinar si los alimentos vendidos de forma ambulante en los exteriores de las instituciones señaladas presentan contaminación con *Escherichia coli* productora de β -lactamasa de espectro extendido.

Orientaciones:

El investigador observará de manera objetiva los siguientes indicadores que permitan obtener información sobre la preparación y expendio de los diferentes alimentos expendidos de forma ambulante en los puntos determinados de recopilación. De acuerdo a lo observado, asigne el código correspondiente o llene el recuadro, según corresponda.



Código					
Recol. (Fecha y hora)					
Sitio de recolección	0° ____ min ____ " S				
	78° ____ min ____ " W				
Categoría de alimento					
Especificación del alimento					
Precio		USD			
Almacenamiento a >20 cm del suelo	Si 1				
	No 2				
Protección del aire ambiente	Si 1				
	No 2				
Manipulación					
Manos	Si 1				
	No 2				
Guantes	Si 1				
	No 2				
Utensilios	Si 1				
	No 2				
Medidas de protección física					
Mandil claro	Si 1				
	No 2				
Red o gorro	Si 1				
	No 2				

Dilución	Tubo α	Tubo β	Tubo γ	Suma
10 ⁻¹				
10 ⁻²				
10 ⁻³				

Dilución	Tubo α	Tubo β	Tubo γ	Suma
10 ⁻¹				
10 ⁻²				
10 ⁻³				

Muestras positivas:	
Sembrar en CHROMAgar ESBL	Si 1 N/A 2

Aislamiento de 5 colonias	
	Si 1 N/A 2

*: Se asignará un código a cada muestra en función de la proximidad que tenga el sitio de recolección con cada Institución, el código estará conformado por tres letras y tres números. Se indican las tres letras de cada institución más adelante y los tres números se asignarán en orden ascendente iniciando por el 000.
 **: Si el alimento se encuentra aislado del contacto de agentes físicos que impone el medioambiente, se considera como alimento protegido.

EXTRACCIÓN DE DNA ☐
 AISLAMIENTO DE CEPAS ☐
 HIA: Hospital Ginecobstétrico Isidro Ayora.
 HBO: Hospital Pediátrico Baca Ortiz.
 HEE: Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.
 HCA: Hospital Carlos Andrade Marín.
 HFA: Hospital de las Fuerzas Armadas N° 1.
 EPN: Escuela Politécnica Nacional.
 UDL: Universidad de las Américas.
 PUC: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
 UPS: Universidad Politécnica Salesiana.
 UCE: Universidad Central del Ecuador.

Responsable: Francisco Yáñez S.